

UNIVERSIDADE ESTADUAL “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS

CAMPUS DE JABOTICABAL

**EFEITOS DAS ANTOCIANINAS, ÁCIDOS
HIDROXICINÂMICOS E VITAMINA C SOBRE A BIOMETRIA
CORPORAL E QUALIDADE ÓSSEA DE RATOS OBESOS E
EUTRÓFICOS**

Beatriz Almeida Rodrigues

Médica Veterinária

Jaboticabal, SP - BRASIL

- 2016-

UNIVERSIDADE ESTADUAL “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS

CAMPUS DE JABOTICABAL

**EFEITOS DAS ANTOCIANINAS, ÁCIDOS
HIDROXICINÂMICOS E VITAMINA C SOBRE A BIOMETRIA
CORPORAL E QUALIDADE ÓSSEA DE RATOS OBESOS E
EUTRÓFICOS**

Beatriz Almeida Rodrigues

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Lizandra Amoroso

Coorientador: Prof. Dr. Hugo Celso Dutra de Souza

Coorientadora: Taís Harumi de Castro Sasahara

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária, Patologia Animal

Jaboticabal, SP – BRASIL

- 2016-

Rodrigues, Beatriz Almeida

O48f Efeitos das antocianinas, ácidos hidroxinâmicos e vitamina C sobre a biometria, composição corporal e qualidade óssea de ratos Wistar. – Jaboticabal, 2016

x, 78 p. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2016

Orientadora: Lizandra Amoroso

Banca examinadora: Antônio Carlos Shimano, Fernanda Nogueira Valentin

Bibliografia

1. Antioxidante. 2. Composição corporal. 3. Densitometria óssea. 4. Biomecânica. 5. Obesidade. 6. Wistar I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 633.34:631.54

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

Beatriz Almeida Rodrigues, filha de Julio Rodrigues de Souza Neto e Hortência Mara Silva Almeida Rodrigues, nasceu em 15 de dezembro de 1990, na cidade Jataí – GO.

Graduou-se em Medicina Veterinária, pela Universidade Estadual de Londrina em dezembro de 2013, no município de Londrina – PR.

Em março de 2014 ingressou no curso de Mestrado em Medicina Veterinária, na área de Patologia Animal, na faculdade de Ciências Agrária e Veterinárias, da Universidade Estadual Paulista, no município de Jaboticabal – SP.

“Cada sonho que você deixa para trás, é um pedaço do seu futuro que deixa de existir”

Steve Jobs

DEDICO

Em especial aos meus pais, Julio Rodrigues de Souza Neto e Hortência Almeida Rodrigues por serem o exemplo de força e determinação, mostrando que nunca podemos nos acomodar e sempre devemos lutar por aquilo que almejamos.

À minha irmã Carolina, simplesmente por existir na minha vida.

Ao meu querido avô Moacyr Rodrigues (in memoriam), que não está mais fisicamente entre nós, mas que com todo seu amor nos mostrou a importância do estudo e que vibrava com todas nossas conquistas, sei que está olhando por nós e que vibra com mais esta!

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais Julio Rodrigue de Souza Neto e Hortência Almeida Rodrigues, por serem meu suporte, me apoiando e orientando em minhas escolhas, sempre presentes em todos os passos de minha vida, me ajudando emocionalmente nos momentos difíceis e ajudando a ir em frente sempre, em busca de sucesso profissional e pessoal.

À minha irmã Carolina Rodrigues, por ser meu exemplo e por estar sempre ao meu lado.

À Prof^a. Dr^a. Lizandra Amoroso, pela orientação e pela amizade nesses dois anos, por me apoiar, confiar no meu trabalho e me entusiasmar com a carreira acadêmica, obrigada por tornar esse projeto possível.

Aos alunos de graduação, Gabrielle Queiroz, Vinicius Gallati e Felipe Perissini, pela ajuda no experimento, o qual sem vocês não seria possível realizar, e principalmente pela amizade construída em 2015.

Ao Prof. Dr. Antônio Carlos Shimano do Departamento de Biomecânica e Medicina e Reabilitação do Aparelho Locomotor da FMRP- USP, por abrir as portas do seu laboratório para realização do projeto e por toda a disponibilidade e ajuda que nos deu.

Ao Prof. Dr. Guilherme de Camargo Ferraz que forneceu espaço no biotério para podermos realizar o experimento.

Aos funcionários Dámaris e Euclides, que sempre estavam dispostos a me ajudar e me ensinar sobre os animais.

Muito obrigadas à todos!

CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº 5848/15 do trabalho de pesquisa intitulado "Efeitos do exercício físico e da ingestão de *Citrus sinensis* (L.) Osbeck sobre as características ósseas e cardíacas de ratos Wistar obesos", sob a responsabilidade da Profª Drª Lizandra Amoroso está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), em reunião ordinária de 01 de abril de 2015.

Jaboticabal, 01 de abril de 2015.


Prof.ª Dr.ª Paola Castro Moraes
Coordenadora – CEUA

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	11
LISTA DE TABELAS.....	12
RESUMO.....	13
ABSTRACT.....	14
1. INTRODUÇÃO.....	15
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	18
2.1 Obesidade e massa óssea.....	18
2.2 Uso de fitoterápico no controle do peso.....	21
3. OBJETIVO.....	23
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	24
4.1 Local, período, animais, instalações e dieta.....	24
4.2 Grupos experimentais.....	24
4.3 Avaliação do Índice de Lee.....	25
4.4 Composição corporal e análise óssea.....	25
4.5 Índice de Seedor.....	26
4.6 Análise estatística.....	26
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	27
5.1 Biometria corporal.....	27
5.2 Composição corporal.....	30
5.3 Índice de Seedor.....	32

5.4 Densitometria óssea.....	33
5.5 Resistência óssea.....	34
6. CONCLUSÕES.....	36
7. REFERÊNCIAS.....	37

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Inter-relações entre o acúmulo de gordura, a formação óssea e reabsorção óssea. Os osteoclastos são originários a partir de precursores monócitos e macrófagos de células-tronco hematopoiéticas. Os adipócitos e macrófagos segregam várias citocinas, tais como TNF- α , IL-1 β , e IL-6, que são capazes de estimular a atividade dos osteoclastos e a reabsorção óssea através da regulação da via RANKL / RANK / OPG. (POLLOCK, 2015).....19

Figura 2. Peso corporal médio (g) \pm desvio padrão de ratos Wistar, machos, tratados com diferentes tipos de dieta durante quatro meses.....26

Figura 3. Circunferência abdominal (cm) \pm desvio padrão de ratos Wistar, machos, tratados com diferentes tipos de dieta durante quatro meses.....27

Figura 4. Índice de Lee \pm desvio padrão de ratos Wistar, machos, tratados com diferentes tipos de dieta durante quatro meses.....28

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Valores médios e desvio padrão do peso corporal, massa magra, tecido adiposo corporal, e porcentagem de gordura de ratos Wistar aos 90 dias de idade, tratados com dieta hipercalórica associada ou não às antocianinas.....29

Tabela 2. Valores médios e desvio padrão do peso corporal, massa magra, tecido adiposo corporal, e porcentagem de gordura de ratos Wistar aos 160 dias de idade, tratados com dieta hipercalórica associada ou não à antocianinas.....29

Tabela 3. Valores médios e desvio padrão do índice de Seedor do úmero e do fêmur de ratos Wistar aos 160 dias de idade, tratados com dieta hipercalórica associada ou não à antocianinas.....31

Tabela 4. Valores médios e desvio padrão da densidade mineral óssea total (BMD), conteúdo mineral ósseo (BMC) e área do esqueleto de ratos Wistar aos 90 dias de idade, tratados com dieta hipercalórica associada ou não à antocianinas.....32

Tabela 5. Valores médios e desvio padrão da densidade mineral óssea total (BMD), conteúdo mineral ósseo (BMC) e área do esqueleto de ratos Wistar aos 160 dias de idade, tratados com dieta hipercalórica associada ou não à antocianinas.....32

Tabela 6. Valores médios e desvio padrão da força máxima (FM), deslocamento da força máxima (DFM) e rigidez relativa (RR) do úmero de ratos Wistar aos 160 dias de idade, tratados com dieta hipercalórica associada ou não à antocianinas.....33

Tabela 7. Valores médios e desvio padrão da força máxima (FM), deslocamento da força máxima (DFM) e rigidez relativa (RR) do fêmur de ratos Wistar aos 160 dias de idade, tratados com dieta hipercalórica associada ou não à antocianinas.....34

Efeitos das antocianinas, ácidos hidroxicinâmicos e vitamina C sobre a biometria corporal e qualidade óssea de ratos obesos e eutróficos

RESUMO- A obesidade é um dos principais desafios para a saúde mundial e apresenta alta prevalência no homem e animais de companhia. Considerando a relevância dessa enfermidade, realizamos a presente pesquisa com o objetivo de avaliar o peso corporal, circunferência abdominal, índice de Lee, composição corporal, índice de Seedor, densidade mineral e resistência óssea de ratos Wistar tratados com dieta hipercalórica associada ou não à laranja vermelha, *Citrus sinensis* (L) Osbeck. O grupo que recebeu somente dieta hipercalórica apresentou menor massa magra em relação aos demais. Os animais tratados com fitoterápico associado à dieta hipercalórica apresentaram redução significativa na porcentagem de gordura em relação ao grupo tratado somente com dieta hipercalórica. Nos ensaios biomecânicos do úmero e fêmur não houve diferença na força máxima de ruptura, embora, no ensaio de compressão houve tendência de maior fragilidade óssea da cabeça do fêmur em ratos tratados somente com dieta hipercalórica. A associação de antocianinas, ácidos hidroxicinâmicos e vitamina C não interfere na densidade mineral óssea e na resistência biomecânica do úmero de ratos tratados com dieta padrão ou hipercalórica no período de cinco meses. Indivíduos resistentes à mudança de hábitos alimentares poderiam ser beneficiados pelo uso prolongado das antocianinas graças ao aumento da massa magra e redução da porcentagem de gordura após tratamento prolongado com laranja vermelha.

Palavras-chave: antioxidantes, composição corporal, densitometria óssea, biomecânica, obesidade, Wistar.

Effects of anthocyanins, hydroxycinnamic acids and vitamin C on body biometrics and bone quality in obese and eutrophic mice

ABSTRACT - Obesity is a major challenge to global health and is highly prevalent in humans and pets. Considering the importance of this disease, we carried out this research in order to evaluate body weight, waist circumference, Lee index, body composition, Seedor index, mineral density and bone strength of Wistar rats treated with high calorie diet with or without orange red, *Citrus sinensis* (L) Osbeck. We note that the animal that received only calorie diet showed less lean mass than the others. In addition, animals treated with herbal associated with calorie diet showed significant reduction in body fat percentage compared to the group treated only with high calorie diet. In biomechanical testing of the humerus and femur there was no difference in maximum breaking strength, although the compression test tended increased bone fragility of the femoral head in rats treated only with high calorie diet. The association anthocyanins, hydroxycinnamic acids and vitamin C does not interfere with bone mineral density and biomechanical strength of the humerus rats treated with standard hypercaloric diet during five months of treatment. Resistant individuals to changing eating habits could benefit by prolonged use of anthocyanins through increased lean mass and decreased body fat percentage after prolonged treatment with red orange.

Keywords: antioxidants, body composition, bone densitometry, biomechanics, obesity, Wistar.

1.INTRODUÇÃO

A obesidade, doença crônica caracterizada pelo acúmulo excessivo de tecido adiposo no organismo, é um problema de saúde pública que afeta indivíduos de qualquer idade, e está associada à alta probabilidade de desenvolvimento de doenças (FUJIMOTO et al., 1999; NABAVI et al., 2015). O aumento da ingestão de alimentos com diminuição do gasto energético é a principal causa da obesidade. Influências ambientais e comportamentais como alto consumo de alimentos ricos em gordura e carboidratos e favorecem o hábito sedentário promovendo o ganho de peso (JEQUIER & BRAY, 2002; RODRIGUES et al., 2015). O acúmulo de gordura é um dos principais problemas sociais e de saúde no mundo, que afeta mais de 30% da população nos países desenvolvidos e cresce rapidamente nos países em desenvolvimento (TRUNOVA et al., 2016).

Similar à espécie humana, o aumento da gordura corporal tem sido frequente em animais, tratando-se da desordem nutricional mais comum em cães e gatos. Geralmente os proprietários não reconhecem como alteração que prejudica a saúde do animal ocasionando alterações secundárias, entre elas, cardíacas e ósseas (GUIMARÃES & TUDURY, 2006).

O aumento da gordura corporal em animais de companhia apresenta proporções epidêmicas no mundo, 59% dos cães e 63% dos gatos são considerados acima do peso. Os fatores de risco mais comuns para sua ocorrência estão relacionados com os hábitos dos proprietários como ausência de exercícios regulares e alimentos industrializados (LINDER & MUELLER, 2014).

Entre as desordens causadas por acúmulo de gordura corporal encontra-se a osteoporose, doença esquelética sistêmica, caracterizada pela diminuição da massa óssea e deterioração da microarquitetura do tecido ósseo, com consequente aumento da fragilidade óssea, e, susceptibilidade as fraturas, a lipotoxicidade e subsequente inflamação decorrentes do aumento de gordura corporal podem ser responsáveis pela perda de massa óssea (NAVAS et al., 2002). Mecanismos moleculares e celulares têm sido elucidados, pelos quais o processo inflamatório é responsável por diminuir a massa óssea afetando o remodelamento, tanto através

da inibição de osteoblastos, quanto do aumento da diferenciação e função dos osteoclastos (DUQUE 2008; MUNDY 2007; OH et al., 2010).

A significativa prevalência da obesidade em humanos é atribuída as mudanças de hábitos alimentares com aumento do consumo de alimentos energéticos associados ao sedentarismo (DINIZ et al., 2008). Apesar do aumento da obesidade, o homem apresenta grande variabilidade entre indivíduos na susceptibilidade do acúmulo de gordura corporal induzida por dieta (GAC et al., 2015). Esta particularidade também é observada em roedores após indução de obesidade experimental pela dieta hiperlipídica (MONTGOMERY et al., 2013).

Desta forma, a obesidade experimental induzida em animais com dieta hipercalórica reproduz o comportamento nutricional humano, propiciando melhor entendimento das perturbações metabólicas, uma vez que os modelos experimentais, principalmente em ratos, são comparados aos humanos (DINIZ et al., 2008). Duarte et al. (2006) demonstraram que a dieta hiperlipídica, administrada durante 15 semanas promovia a obesidade em ratos Wistar machos, com 21 dias de idade no início do tratamento, sem alterar o depósito de gordura abdominal ou concentração de glicose e insulina sérica em ratos, aumentando a adiposidade e a porcentagem de peso corporal dos animais. A dieta de cafeteria utilizada em ratos tem maior potencial de promover a obesidade em comparação com a dieta hiperlipídica, por ser altamente energética, rica em açúcares e gordura responsáveis por alterar os circuitos neuronais, promovendo o excesso de consumo e acúmulo de tecido adiposo (BERRIDGE et al., 2010; SCLAFANI & SPRINGER, 1976; SAMPEY et al., 2011). As dietas de cafeteria consistem em alimentos palatáveis para humanos que são fornecidas aos roedores (ROTHWEEL & STOCK, 1979).

O aumento de gordura corporal é um dos problemas mais graves de saúde pública no Brasil e no mundo ocidental, e, com o uso inadequado de recursos terapêuticos, vem aumentando a procura por alternativas para combatê-la, com o uso de componentes de alimentos que tem o potencial de suprimir o acúmulo de gordura, a exemplo do uso de medicamentos fitoterápicos, coadjuvantes aos supressores de apetite, inibidores da absorção de nutrientes e aumento do gasto energético por meio de exercícios (SANTOS et al., 2007; STEYER & ABLES, 2009; JOO et al., 2013).

Como agente emagrecedor, o fitoterápico é frequentemente utilizado devido à crença de que os produtos naturais são mais seguros, e com efeitos colaterais quase nulos ou ausentes quando comparados aos anorexígenos sintéticos. Ademais, os estudos sobre tais produtos têm colocado em destaque esse tipo de terapia pelos avanços obtidos em relação à qualidade, segurança e eficácia (BERNARDI et al., 2011).

Como a obesidade é uma doença inflamatória crônica de elevada incidência mundial que apresenta fatores de risco para outras enfermidades, sugerimos o presente projeto em animais experimentais e submetidos à dieta hipercalórica, com o objetivo de investigar os efeitos de antocianinas sobre a biometria corporal e a condição óssea.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Obesidade e massa óssea

A obesidade considerada problema de saúde pública que afeta milhões de pessoas, e tem impacto negativo na saúde por ser fator de risco para fratura óssea. O excesso de peso promove, inicialmente, a desmineralização do osso esponjoso devido ao seu elevado metabolismo. O aumento das taxas de reabsorção óssea afeta as propriedades mecânicas, estruturais e a qualidade do osso cortical (SHEN et al., 2013; ESTRELA et al., 2015).

Antigamente a obesidade era considerada benéfica para a saúde dos ossos. Isto era atribuído ao excesso de peso corporal que aumentaria a carga suportada pelos ossos indicando que indivíduos obesos teriam maior densidade mineral óssea e com isso, menor risco de fraturas. Recentemente, observou-se que a má saúde metabólica, resultado da obesidade, está associada ao aumento do risco de fraturas por ter efeitos negativos na saúde dos ossos prejudicando a estrutura e função desse tecido (GOWER & CASAZZA, 2013).

O aumento da massa corporal e a secreção alterada de fatores inflamatórios biológicos, como as interleucinas (ILs) são duas prováveis formas de alteração das propriedades ósseas na obesidade. Embora a contribuição da massa corporal seja benéfica para a qualidade do osso, a massa magra é mais importante do que a massa gorda para a densidade mineral óssea (MARTIN-IONOVA et al., 2010).

Os mecanismos que envolvem osso e gordura estão ligados, uma vez que os adipócitos e osteoblastos, responsáveis pela formação óssea originam-se a partir de células estaminais mesenquimais na medula óssea, e fatores que estimulam a adipogênese são os mesmos que inibem os osteoblastos (ROSEN & BOUXSEIN, 2006). A compreensão da renovação óssea aumentou consideravelmente com a descoberta dos condutores moleculares da osteoclastogênese, o RANKL e a osteoprotegerina OPG (VEGA et al., 2007). Os osteoblastos regulam a atividade dos osteoclastos através da expressão de RANKL e OPG, o RANKL é expresso na superfície celular dos osteoblastos e se liga ao seu receptor RANK, na superfície do precursor hematopoiético para estimular a diferenciação e maturação dos

osteoclastos (YASUDA et al., 1998). A OPG é um receptor secretada pelos osteoblastos, que se liga ao RANKL para evitar a ativação do RANK e portanto impede a ativação de osteoclastos e consequente reabsorção óssea (LACEY et al., 1998).

Na obesidade a ativação do sistema imune não se reflete apenas por elevadas concentrações de citocinas pró inflamatórias, mas também por infiltrado de macrófagos no tecido adiposo, fígado e músculo. No tecido adiposo, a inflamação sistêmica pode ser iniciada pela disfunção dos adipócitos (ESSER et al., 2014), e é causada por toxinas intracelulares como ceramidas, que se acumulam no tecido adiposo durante a ganho de peso (VANDANMAGSAR et al. 2011).

O excesso de tecido adiposo pode afetar a qualidade óssea através de diversos mecanismos, incluindo secreção alterada de hormônios e citocinas, desregulação metabólica, alterações na carga mecânica e aumento na osteoclastogênese (SHAPSES & SUKUMAR, 2012; ZHAO et al., 2008). A obesidade aumenta a atividade dos osteoclastos, levando ao aumento da desmineralização óssea. As citocinas pró inflamatórias como a IL-1, IL-6 e o TNF- α atuam na via de absorção e reabsorção óssea (CAO, 2011). Estas citocinas pró inflamatórias são capazes de estimular a atividade dos osteoclastos através da regulação da via RANKL / RANK / OPG, promovendo maior reabsorção óssea (KHOSLA, 2001; PFEILSCHIFTER et al, 2002). Indivíduos obesos encontram-se, frequentemente, com níveis deficientes de vitamina D, hormônio envolvido no complexo sistema endócrino que regula a homeostase de minerais e protege a integridade do esqueleto, estimulando a absorção de cálcio no intestino e inibindo a excreção pelos rins. O paratormônio (PTH), encontrado em altas concentrações em indivíduos obesos, aumenta a excreção de cálcio pelos rins, impedindo a deposição desse mineral nos ossos (BANDEIRA 2007; NAVARRO-MORENO & ALIA-RAMOS, 2006).

O tecido adiposo secreta a proteína leptina, que em altas concentrações, como na obesidade, suprime a formação óssea e aumenta a reabsorção. Outros meios que interferem na densidade mineral óssea são as elevadas concentrações de glicose e lipídios que podem inibir a diferenciação osteogênica de precursores dos osteoblastos, responsáveis pela formação óssea, ocorrendo desequilíbrio entre formação e reabsorção (HAMRICK et al., 2009).

A osteoporose é uma enfermidade sistêmica crônica do esqueleto, caracterizada por perda da massa óssea e deterioração da microarquitetura, resultando no aumento da fragilidade óssea. A fratura é a principal complicação clínica da osteoporose, cuja incidência tem crescido, reduzindo a expectativa de vida (GEMALMAZ et al., 2007). Tintut et al. (2004) demonstraram que a osteoporose está associada à obesidade, através do aumento da atividade osteoclástica em ratos hiperlipidêmicos em relação ao grupo controle. Os autores observaram que a hiperlipidemia contribuiu para a ocorrência da osteoporose aumentando a via de reabsorção óssea. Segundo Lecka-Czernik et al. (2015) animais que tiveram a obesidade induzida pela dieta apresentaram maior densidade mineral óssea (BMD) e aumento de adipócitos na medula óssea vermelha. A massa óssea adquirida na obesidade resulta de duas fases, a primeira, consiste no efeito benéfico do peso na massa óssea devido ao aumento da carga mecânica. Isso é seguido pela segunda fase caracterizada pela formação e renovação óssea diminuída, resultante do desenvolvimento de disfunção metabólica causada pela obesidade.

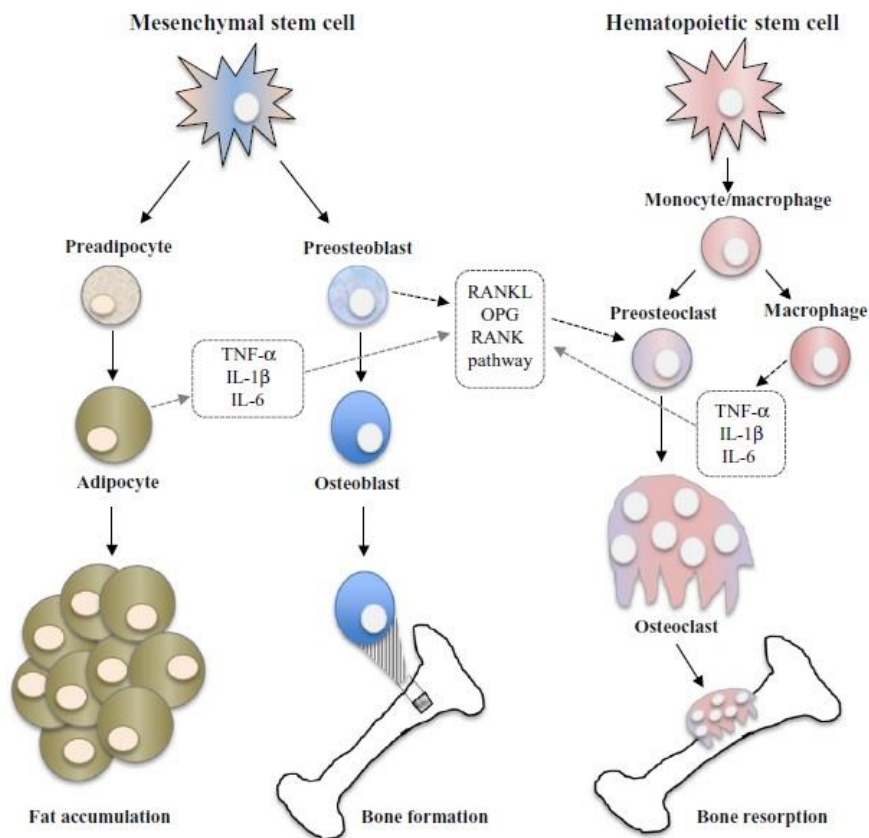


Figura 1. Inter-relações entre o acúmulo de gordura, a formação óssea e reabsorção óssea. Os osteoclastos são originários a partir de precursores monócitos e macrófagos de células-tronco

hematopoiéticas. Os adipócitos e macrófagos segregam várias citocinas, tais como TNF- α , IL-1 β , e IL-6, que são capazes de estimular a atividade dos osteoclastos e a reabsorção óssea através da regulação da via RANKL / RANK / OPG. (POLLOCK, 2015)

Portanto, de acordo com as observações anteriores, é preocupante como as alterações metabólicas promovidas pela obesidade podem interferir de modo determinante na morfologia e densidade óssea.

2.2. O uso de fitoterápicos no controle de peso corporal

Como apontado anteriormente, o desenvolvimento da obesidade está fortemente relacionado com a disfunção dos adipócitos. O aumento na secreção de adipocinas, como a IL-6, TNF- α é relacionado à hipertensão (angiotensinogênio), ao prejuízo da fibrinólise (inibidor do ativador de plasminogênio-1) e à resistência à insulina. Nas últimas décadas, muita atenção tem sido dada a alguns fatores alimentares que podem ser benéficos para prevenir o acúmulo de gordura corporal, e, possivelmente reduzir o risco de doenças endócrino-metabólicas e cardíacas (TSUDA et al., 2006; GUIMARAES et al., 2007). Entre eles, os fitoterápicos que são medicamentos industrializados, cujo princípio ativo provém de derivados vegetais e são conhecidos popularmente por ter ações preventivas ou curativas de enfermidades (ANVISA, 2004).

A fitoterapia é muito difundida pelos profissionais da saúde e cada vez mais utilizada pela população mundial, com a finalidade de tratar diversas patologias através de substratos de origem botânica. Plantas medicinais são estudadas e utilizadas com o objetivo de promover redução de peso, principalmente àquelas com ação inibidora das lipases, contendo propriedades termogênicas (KURIAN et al., 2007).

Estimular o metabolismo ou diminuir a ingestão de alimentos (balanço energético negativo) é a principal ação dos medicamentos fitoterápicos no combate à obesidade. O crescimento do uso desses medicamentos para reduzir o ganho de peso é explicado pela mudança de hábito da população que tem se preocupado em adotar estilo de vida saudável (PELIZZA, 2010).

A laranja vermelha, conhecida como Moro, variedade da *Citrus sinensis* (L) *Obesck*, tem cor característica devido ao pigmento pertencente à classe de antocianina (LIANG et al., 2011). As antocianinas são compostos fenólicos da classe dos flavonoides encontradas no reino vegetal. Elas conferem as cores laranja, azul ou roxo a algumas frutas e vegetais, além de promover benefícios à saúde (CAVALCANTI et al., 2011). Estudos indicaram que uma das ações dos flavonoides é a inibição da peroxidação de lipídios, além de exercer ação antioxidante, atuando contra os radicais livres (RATTY & DAS, 1988).

Recentemente, foi demonstrado que as antocianinas presentes na dieta suprimem significativamente o desenvolvimento da obesidade, normalizando a hipertrofia dos adipócitos no epidídimo e tecidos adiposos brancos, além de amenizar a hiperglicemia induzida pela dieta alimentar rica em gordura em camundongos C57BL / 6J (TSUDA et al., 2003). Estes resultados sugerem que as antocianinas regulam a obesidade e a sensibilidade à insulina associada com o controle da secreção de adiponectina e leptina (TSUDA et al., 2006).

Outra característica da laranja vermelha, é alta concentração de vitamina C e ácidos hidroxicinâmicos (GROSSO et al. 2013). A vitamina C é micronutriente essencial na síntese de colágeno, tem ação antioxidante e na oxidação de gordura (LEÃO & SANTOS 2012). Os ácidos hidroxicinâmicos são compostos fenólicos que modulam a defesa antioxidante em decorrência da inflamação. São encontrados em abundância em frutas e são associados à redução do risco de problemas cardiovasculares e outras enfermidades crônicas (OLIVEIRA & BASTOS, 2011).

Nagem et al. (1999) observaram redução significativa das concentrações de colesterol e triglicérides, além do aumento do colesterol HDL em ratos Wistar tratados com naringenina associada à antocianina. Titta et al. (2009) demonstraram que animais com obesidade induzida por dieta hiperlipídica, tratados com o extrato seco da laranja vermelha, apresentaram redução de 25% a 50% do tecido adiposo abdominal.

A administração de um pó liofilizado em ratos obesos, obtido da amoreira *Morus alba* L., resultou em efeitos hipolipidêmicos e antioxidantes positivos, diminuindo significativamente a concentração de colesterol e triglicérides Esses

efeitos benéficos parecem atribuídos aos compostos fenólicos: flavonoides e antocianinas presentes na folha da *Morus Alba L.* (YANG et al., 2010).

A literatura demonstrou até o presente, os efeitos antioxidantes favoráveis das antocianinas ao sistema cardiovascular e na manutenção de níveis sanguíneos de colesterol desejáveis. Considerando a carência de pesquisas sobre as ações das antocianinas na qualidade óssea, propusemos a presente pesquisa para avaliar os efeitos de antocianinas sobre a biometria corporal e condição de ratos tratados com dieta hipercalórica.

3. OBJETIVOS

Estudar em ratos eutróficos e obesos, os efeitos da ingestão de dieta hipercalórica e do tratamento com fitoterápico constituído por fenólicos da classe dos flavonoides sobre a morfologia e qualidade óssea.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Local, período, animais, instalações e dieta

O experimento foi realizado no Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da FCAV/UNESP - Campus de Jaboticabal/SP. O total de 48 ratos Wistar com 21 dias de vida (peso médio de 80 g) provenientes do Biotério do Laboratório Experimental da Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - UNESP, São Paulo, Brasil foram obtidos em fevereiro de 2015. A distribuição de animais correspondeu a três ratos por caixa de polipropileno com tampas de arame cromado, em um total de 28 caixas que foram forradas com maravalha. Os animais foram mantidos em ambiente com temperatura controlada a 25°C com fotoperíodo definido em 12 horas de claro e 12 horas de escuro.

Para os animais do grupo controle a dieta foi somente a ração Presence da Purina®, e, para promover acúmulo de tecido adiposo, foi utilizada a dieta de cafeteria constituída por 40% de ração Purina® farelada, 20% de gordura sólida Sadia®, 3% de emulsificante Marvigel®, 10% de achocolatado em pó Nescau®, 8% de leite condensado Piracanjuba®, 3% de amido, 5% de bolacha *waffer* de chocolate, 5% de *Whey protein ON*®, 4% de creme de leite e 2% de óleo vegetal. A ração foi feita uma vez por semana, às terças feiras, os ingredientes foram misturados e utilizado um cano de PVC comum de uma polegada para formar os *pelets*. A ração obtida foi embalada em sacos plásticos e conservada em geladeira e fornecida aos ratos uma vez ao dia, pela manhã. Os animais foram pesados três vezes por semana e os valores foram tabulados em uma planilha.

4.2. Grupos experimentais

O total de 48 animais foi distribuído em quatro grupos de 12 animais cada. O fitoterápico era constituído por antocianinas, vitamina C e ácidos hidroxicinâmicos com forma de apresentação pulverizada (em pó). Ele foi diluído em 1mL de água destilada e administrado via oral uma vez por dia, durante 60 dias por gavagem, a dose variou de acordo com a idade dos animais e do peso corporal, e foi calculada de acordo com índice de massa corporal (IMC). Os tratamentos consistiram em:

- 1- Dieta padrão
- 2- Dieta hipercalórica
- 3- Dieta padrão + fitoterápico
- 4- Dieta hipercalórica + fitoterápico

4.3 Avaliação do Índice de LEE

O índice de obesidade para roedores (*Lee Index*) foi calculado através do comprimento naso-anal e o peso corporal, onde: Índice de Lee=(raiz cúbica ($3\sqrt{\text{ }}$) do peso corporal (g)/comprimento naso-anal (cm) x 1000). (BERNARDIS et al., 1968).

4.4 Composição corporal e análise óssea

Os animais foram anestesiados com Ketamina e Xilazina, posicionados em decúbito esternal com os membros e cauda estendidos no DXA, Hologic®, e escaneados no modo infantil (área de 80 cm), utilizando software acoplado ao equipamento. Foi obtida a composição corporal, a BMD e o conteúdo mineral ósseo (BMC) em g/cm² de todos os grupos experimentais aos 90 e 160 dias de idade. Os animais foram eutanasiados no final do experimento, com Isoflorano® e pesados em balança semianalítica para obtenção do peso corporal. O úmero e fêmur foram dissecados e congelados (-18°C) até o início das análises. Em seguida o material foi mantido à temperatura ambiente por 24h para análise da resistência óssea, realizadas no Departamento de Biomecânica, Medicina e Reabilitação do Aparelho Locomotor da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da USP. O úmero foi utilizado para o ensaio de flexão de três pontos, e o fêmur, no ensaio de compressão. As análises de resistência óssea foram realizadas no equipamento Texture Analyser TA.XT Plus. O úmero foi acomodado longitudinalmente no aparelho com a face medial para cima, vão livre de 20mm e 500N no centro da diáfise à velocidade de 1,0mm/segundo. No ensaio de compressão, os fêmures foram alocados verticalmente no aparelho. Com força de 500N sobre a epífise proximal e velocidade de 0,5mm/segundo. Um software específico foi utilizado para registrar a força necessária empregada para o rompimento dos ossos.

4.5 Índice de Seedor

O índice de Seedor é o valor obtido ao se dividir o peso do osso por seu comprimento, conforme proposto por Seedor (1993), serve como indicativo da densidade óssea.

4.6 Análise estatística

Para a análise estatística foi elaborada uma planilha eletrônica e as informações foram analisadas através do programa eletrônico Sigma-Stat®, versão 2.03. Em seguida, as variáveis normais, homocedásticas, foram analisadas utilizando-se testes paramétricos. Na comparação entre dois grupos, o teste "t" de Student; e na comparação entre três ou mais grupos a análise de variância (ANOVA). Foram consideradas estatisticamente significantes as diferenças em que p for menor que 5% ($p < 0,05$).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Biometria corporal

Os pesos dos animais obtidos ao longo do experimento estão representados na figura 2. Não houve diferença ($p>0,05$) no peso corporal nos grupos analisados de fevereiro a junho. Evidencia-se aumento de peso em todos os grupos com o decorrer do tempo. Apesar de não haver diferença estatística, observa-se tendência de maior peso corporal nos animais tratados com dieta hipercalórica, associada ou não com fitoterápico em junho (Figura 2).

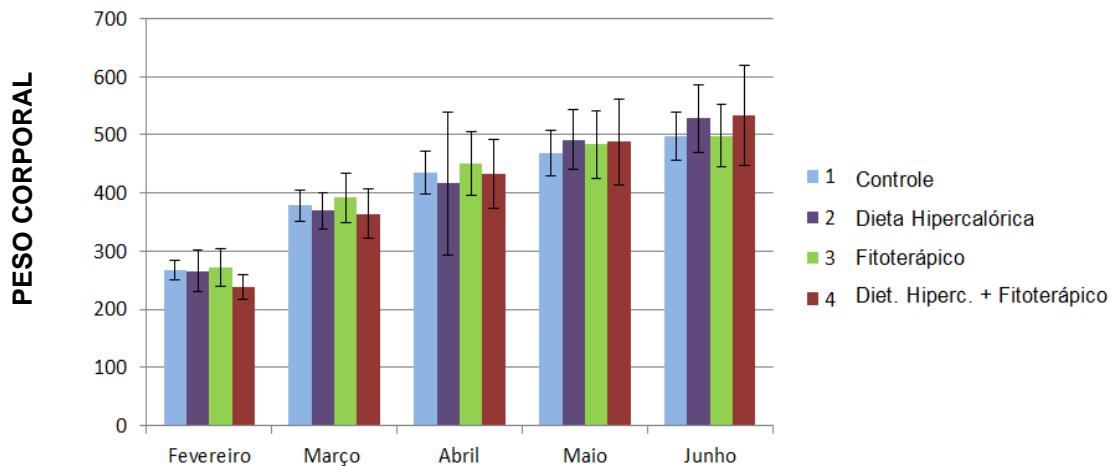


Figura 2. Peso corporal médio (g) \pm desvio padrão de ratos Wistar, machos, tratados com diferentes tipos de dieta durante quatro meses.

Similar a Marques et al. (2015) que não observaram aumento significativo no peso dos ratos tratados com dieta controle e dieta de cafeteria, durante 30 dias, sugerindo tempo maior de tratamento para que adaptação metabólica dos animais com dieta hipercalórica. Lee et al. (2014) não observaram diferença no ganho de peso entre os ratos tratados com dieta padrão e os tratados com dieta com alto teor de gordura. Assim como Shen et al. (2015) que não observaram diferença significativa no peso corporal inicial, os grupos controle e o tratado com dieta com alto teor de gordura ganharam peso corporal nos quatro primeiros meses de experimento.

Corroborando com nossos dados, Zhang et al. (2013) observaram aumento não significativo no ganho de peso nos ratos após quatro semanas de tratamento

com dieta hipercalórica associada ou não à batata doce roxa, rica em antocianinas, indicando que as antocianinas não tiveram efeito no peso corporal dos animais.

Resultado semelhante também foi relatado por Samuel Wu et al. (2013) em ratos após dez semanas com dieta hipercalórica associado ou não com extrato aquoso da flor da lichia, rica em antocianinas, não observaram diferença entre o grupo controle e tratado com dieta hipercalórica associado ou não com o extrato da flor de lichia, após dez semanas de tratamento, indicando que as antocianinas não contribuíram para diminuição do peso corporal. Diferente de Titta et al. (2009) que observaram redução no peso e no acúmulo de gordura corporal e resistência à obesidade em animais tratados com dieta hipercalórica associada ao extrato líquido da laranja vermelha. Resultados similares foram encontrados por Cardile et al. (2015) em humanos, com menor peso corporal, IMC e redução na circunferência abdominal após 12 semanas de tratamento com extrato líquido da laranja Moro.

A circunferência abdominal obtida ao longo do experimento está ilustrada na figura 3. Não houve diferença ($p>0,05$) na circunferência abdominal entre os grupos controle e tratado com dieta hipercalórica, associado ou não ao extrato da laranja vermelha.

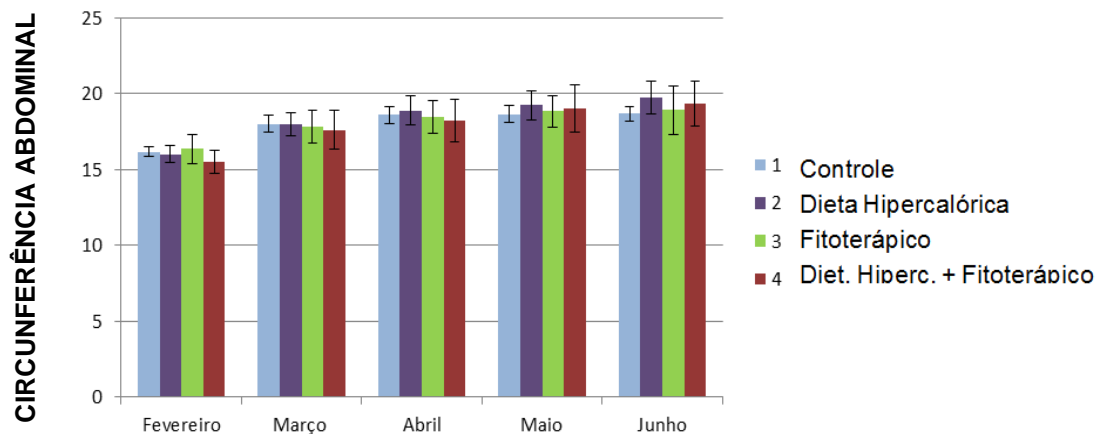


Figura 3. Circunferência abdominal (cm) \pm desvio padrão de ratos Wistar, machos, tratados com diferentes tipos de dieta durante quatro meses.

Semelhante aos resultados obtidos Angélico et al. (2012) também relataram, que, após quatro semanas de experimento, não houve diferença na circunferência abdominal de ratos tratados com dieta normocalórica e com alto teor de lipídeos. Por outro lado, Marques et al. (2015) observaram aumento da circunferência abdominal

após 60 dias em ratos tratados com dieta de cafeteria, baseada em produtos com alto teor calórico. No nosso experimento evidencia-se semelhante distribuição de médias no mês de junho para o peso corporal e a circunferência abdominal (Figuras 2 e 3).

O índice de Lee observado na figura 4 é usado como forma rápida para determinar a obesidade em ratos submetidos a um método de ganho de peso, como foi utilizado através da dieta hipercalórica, os grupos avaliados não apresentaram diferença entre si ($p > 0,05$), desta forma não pode-se determinar a obesidade nos animais que foram tratados com dieta hipercalórica, associada ou não com fitoterápico. Malafaia et al. (2013) também não observaram diferença no índice de Lee em ratos submetidos à dieta padrão suplementada com sacarose. Similar aos achados anteriores, Angélico et al. (2012), não observaram diferença no índice de Lee entre os grupos alimentados com ração de alto teor de gordura com o controle.

Ao contrário dos nossos resultados, Marques et al. (2015) observaram aumento no índice de Lee em ratos tratados com dieta de cafeteria, após 60 dias de experimento. Neves et al. (2014) também observaram aumento do índice de Lee em ratos tratados com dieta indutora de obesidade Western durante 16 semanas.

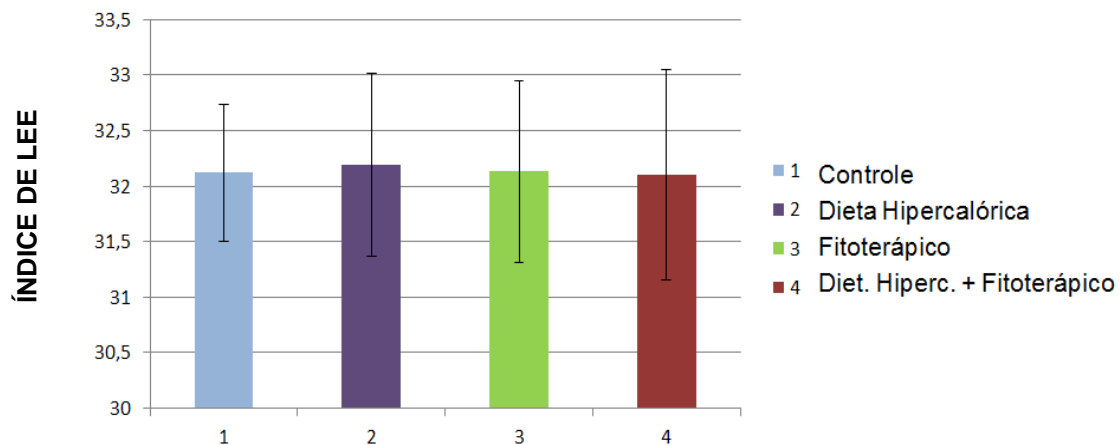


Figura 4. Índice de Lee \pm desvio padrão de ratos Wistar, machos, tratados com diferentes tipos de dieta durante quatro meses.

5.2 Composição corporal

Nota-se que não houve diferença ($p>0,05$) no peso corporal aos 90 e 160 dias de idade (Tabela 1). O tecido adiposo corporal e a porcentagem de gordura apresentaram valores superiores nos animais tratados com dieta hipercalórica associada ou não ao fitoterápico ($p<0,05$) em relação ao grupo controle e fitoterápico (Tabela 1).

Tabela 1. Valores médios e desvio padrão do peso corporal, massa magra, tecido adiposo corporal, e porcentagem de gordura de ratos Wistar aos 90 dias de idade, tratados com dieta hipercalórica associada ou não às antocianinas

GRUPO	Peso corporal (g)	Massa magra (g)	Tecido adiposo corporal (g)	Gordura %
Controle	442,72±39,54	363,85±33,63 ^a	79,13±22,44 ^a	17,80±4,58 ^b
Hipercalórica	463,00±50,29	332,13±24,13 ^b	130,76±47,59 ^b	27,70±7,17 ^a
Fitoterápico	465,00±63,75	385,90±39,56 ^{ab}	80,50±35,81 ^a	16,70±5,48 ^b
Hiperc. + Fitot.	463,00±50,29	332,13±24,13 ^b	130,76±47,59 ^b	27,60±7,17 ^a
CV	11,27	8,78	37,74	27,57
P-value	0,6884	0,0001	0,0009	<,0001

CV= Coeficiente de variação. Médias com letras distintas nas colunas são significativas no nível de 0,05 pelo teste de Tukey.

Aos 90 dias de idade, a massa magra não diferiu entre os grupos controle e fitoterápico. Por sua vez, o grupo controle diferiu do tratado com dieta hipercalórica e dieta hipercalórica associada ao fitoterápico ($p<0,05$) (Tabela 1). Aos 160 dias de idade, o grupo fitoterápico apresentou maior massa magra (Tabela 2), entretanto, não diferiu do controle e do tratado com dieta hipercalórica associada ao fitoterápico ($p>0,05$).

Tabela 2. Valores médios e desvio padrão do peso corporal, massa magra, tecido adiposo corporal, e porcentagem de gordura de ratos Wistar aos 160 dias de idade, tratados com dieta hipercalórica associada ou não à antocianinas.

GRUPO	Peso corporal (g)	Massa magra (g)	Tecido adiposo corporal (g)	Gordura %
Controle	491,85±42,16	400,70±38,2 ^{ab}	91,11±22,68 ^a	18,48±4,13 ^c
Hipercalórica	535,84±63,18	360,97±41,32 ^{ab}	165,34±75,16 ^b	32,09±8,00 ^a
Fitoterápico	521,43±73,23	429,23±53,47 ^a	92,18±33,3 ^a	17,44±4,24 ^c
Hiperc. + Fitot.	511,95±62,17	353,61±113,52 ^b	130,90±37,0 ^{ab}	25,30±5,60 ^b
CV	11,82	17,53	39,04	24,51
P-value	0,3614	0,0380	0,0008	<,0001

CV= Coeficiente de variação. Médias com letras distintas nas colunas são significativas no nível de 0,05 pelo teste de Tukey.

Observamos que o grupo que recebeu somente dieta hipercalórica apresentou menor massa magra em relação aos demais ($p < 0,05$). Com esses resultados sugere-se que o fitoterápico possa ser eficiente em indivíduos obesos que têm dificuldade de modificar o padrão alimentar de alta quantidade de calorias para um valor diário aceitável. A tabela 1 mostra que o tecido adiposo corporal foi significativamente maior nos grupos tratados com dieta hipercalórica ($p < 0,05$), independente da utilização de fitoterápico aos 90 dias de idade. Aos 160 dias de idade, os grupos controle e fitoterápico mantiveram semelhante quantidade de tecido adiposo corporal, mas diferiram do grupo tratado com dieta hipercalórica que, por sua vez, não diferiu do grupo tratado com dieta hipercalórica associada ao fitoterápico. Mesmo que a concentração de calorias estivesse excessiva no grupo 4, evidencia-se que o fitoterápico proporcionou a manutenção da quantidade de tecido adiposo corporal de 90 até 160 dias de idade. Ainda que não haja diferença estatística, consideramos que a redução da quantidade de tecido adiposo corporal e da porcentagem de gordura em torno de 22% deve ser ponderada em indivíduos que tem dificuldade de seguir dietas que envolvam restrição calórica e fazem uso de emagrecedores.

À semelhança dos resultados obtidos no presente experimento, Borba et al. (2011) relataram que ratos Wistar tratados com dieta hiperlipídico-proteica acumularam mais tecido adiposo que o grupo controle durante dois meses. Enquanto Malvi et al. (2014) observaram aumento significativo de tecido adiposo aos 210 e 270 dias de idade. Aos 90 dias de idade evidencia-se que a porcentagem (%) de gordura dos grupos controle e tratado com fitoterápico não diferiu ($p > 0,05$), mas apresentou valores numéricos inferiores em relação aos grupos tratados com dieta hipercalórica associada ou não fitoterápico. Já aos 160 dias a porcentagem de gordura manteve o mesmo perfil nos grupos controle e fitoterápico ($p > 0,05$), mas diferiu dos demais. De acordo com Shen et al. (2015) ratos tratados com dieta com alto teor de gordura durante 4 meses não apresentaram diferença composição corporal, tecido adiposo corporal e % de gordura.

O fitoterápico foi eficiente em reduzir a porcentagem de gordura, considerando que a média do grupo que ingeriu somente dieta hipercalórica foi superior aos outros grupos. Sugere-se que a mudança dos hábitos alimentares, com

menor porcentagem de gorduras e carboidratos na dieta poderia ser mais eficiente na redução do tecido adiposo e manutenção da massa magra, sem a necessidade de uso de fitoterápicos. Mesmo que não haja redução de tecido adiposo corporal e aumento de massa magra, a menor porcentagem de gordura em ratos alimentados com dieta hipercalórica associada ao fitoterápico no quinto mês experimental parece demonstrar tendência de efeito a longo prazo.

5.3 Índice de Seedor

Na tabela 3 observa-se que não houve diferença entre os tratamentos ($p>0,05$) no índice de Seedor do úmero e fêmur. Esses dados são coerentes com os valores de densitometria óssea dos 90 e 160 dias de idade, considerando-se que o índice de Seedor é um dos fatores preditivos da densidade mineral óssea.

Tabela 3. Valores médios e desvio padrão do índice de Seedor do úmero e do fêmur de ratos Wistar aos 160 dias de idade, tratados com dieta hipercalórica associada ou não à antocianinas.

Grupo	Índice de Seedor do Úmero	Índice de Seedor do Fêmur
Controle	0,190 ± 0,03	0,33 ± 0,04
Hipercalórica	0,185 ± 0,02	0,32 ± 0,03
Fitoterápico	0,194 ± 0,03	0,35 ± 0,03
Hiperc. + Fitot.	0,187 ± 0,02	0,32 ± 0,04
CV (%)	16,70	11,76
P-value	0,9266	0,2168

CV= Coeficiente de variação.

De acordo com Seedor (1993), o BMD pode ser estimada utilizando-se a BMC, ensaios biomecânicos e o índice de Seedor. Similar aos nossos achados, Pereira et al., (2012) não encontraram diferenças nas características ósseas e no índice de Seedor de aves suplementadas com diferentes níveis de fósforo ao 28 dias de idade. Já Murakami et al. (2009) observaram maior índice de Seedor em aves tratadas com linhaça aos 42 dias de idade.

5.4 Densitometria óssea

Os valores de BMD, composição mineral óssea BMC não foram significativos ($p>0,05$) nos diferentes tratamentos aos 90 e 160 dias de idade (Tabela 4 e 5). Esses resultados demonstram que a dieta hipercalórica associada ou não ao fitoterápico não promoveu mudanças na qualidade do esqueleto, tanto na densidade mineral óssea (BMD) quanto no conteúdo mineral ósseo (BMC) e na área, durante o tratamento de quatro meses com dieta hipercalórica, associada ou não ao extrato seco da laranja vermelha (Tabelas 4 e 5).

Tabela 4. Valores médios e desvio padrão da densidade mineral óssea total (BMD), conteúdo mineral ósseo (BMC) e área do esqueleto de ratos Wistar aos 90 dias de idade, tratados com dieta hipercalórica associada ou não à antocianinas.

Grupo	BMD (g/cm ²)	BMC (g)	Área (cm ²)
Controle	0,10 ± 0,004	8,90 ± 0,73	82,80 ± 5,08
Hipercalórica	0,10 ± 0,006	9,70 ± 1,34	88,60 ± 8,09
Fitoterápico	0,11 ± 0,008	9,30 ± 1,40	83,70 ± 8,75
Hiperc. + Fitot.	0,10 ± 0,006	9,80 ± 1,34	88,60 ± 8,09
CV (%)	6,15	13,14	8,89
P-value	0,6362	0,2710	0,1251

CV= Coeficiente de variação. Médias com letras distintas nas colunas são significativas no nível de 0,05 pelo teste de Tukey.

Tabela 5. Valores médios e desvio padrão da densidade mineral óssea total (BMD), conteúdo mineral ósseo (BMC) e área do esqueleto de ratos Wistar aos 160 dias de idade, tratados com dieta hipercalórica associada ou não à antocianinas.

Grupo	BMD (g/cm ²)	BMC (g)	Área (cm ²)
Controle	0,11 ± 0,002	10,06 ± 0,840	89,01 ± 5,180
Hipercalórica	0,11 ± 0,007	11,61 ± 1,620	97,47 ± 8,970
Fitoterápico	0,11 ± 0,008	10,72 ± 1,800	91,97 ± 11,050
Hiperc. + Fitot.	0,11 ± 0,006	10,78 ± 1,660	92,93 ± 9,980
CV (%)	11,20	14,08	9,69
P-value	0,8870	0,1144	0,1587

CV= Coeficiente de variação. Médias com letras distintas nas colunas são significativas no nível de 0,05 pelo teste de Tukey.

Diferente dos nossos resultados, Malvi et al. (2014) observaram aumento na BMD e BMC e da área óssea em ratos obesos tratados com dieta hiperlipídica aos 210 e 270 dias de idade. Da mesma forma, Lecka-Czernik et al. (2015) relataram que os animais com obesidade induzida pela dieta apresentaram maior BMD do que o grupo controle, que não recebia dieta com alto teor de lipídeos. Assim como You et al., (2011) que alimentaram animais com dieta rica em colesterol por dois meses,

observaram diminuição da BMD concluindo que há relação entre alto teor de gordura na dieta e obesidade. Battha et al. (2015) observaram diminuição da densidade mineral óssea em ratos tratados com dieta de alto teor de gordura e sacarose durante 28 semanas. Sugere-se que o tempo de tratamento com dieta hipercalórica associada ou não com fitoterápico de 160 dias não foi suficiente para produzir alteração significativa na densidade mineral óssea, composição óssea e área óssea.

5.5 Resistência Óssea

Os resultados do ensaio biomecânico de três pontos demonstrou que não houve diferença na força de ruptura do úmero entre os tratamentos ($p>0,05$) (Tabela 6).

Tabela 6. Valores médios e desvio padrão da força máxima (FM), deslocamento da força máxima (DFM) e rigidez relativa (RR) do úmero de ratos Wistar aos 160 dias de idade, tratados com dieta hipercalórica associada ou não à antocianinas.

GRUPO	FM (N)	DFM (mm)	RR (N/mm)
Controle	96,13 ± 16,00	0,47 ± 0,10	237,9 ± 51,38
Hipercalórica	80,92 ± 29,20	0,43 ± 0,03	231,39 ± 25,91
Fitoterápico	95,2 ± 23,40	0,44 ± 0,09	229,45 ± 41,71
Hiperc. + Fitot.	97,07 ± 15,50	0,52 ± 0,08	196,61 ± 83,74
CV (%)	23,78	17,86	24,61
P-value	0,3229	0,1117	0,3585

N= Newton. CV= Coeficiente de variação

A presença de maior concentração de tecido ósseo cortical na região de ruptura pode estar relacionada com menor perda de tecido a curto prazo. Similar aos nossos achados Shen et al. (2015) não observaram diferença estatística na força empregada no ensaio de flexão em 3 pontos no fêmur de ratos alimentados com dieta rica em gordura em relação a dieta padrão. De acordo com Peng et al. (1994), há maior resistência no osso cortical, onde as perdas são menores pelo fato da reabsorção na região endosteal ser compensada pelo crescimento na área periosteal (BILEZIKIAN, 1996). Desta forma, o período experimental pode não ter sido suficiente para que houvesse mudança no padrão do osso cortical, que é tecido de menor metabolismo e maior resistência às forças nele aplicadas.

Após o emprego do teste de compressão da epífise proximal do fêmur, detectamos que não houve diferença entre os grupos ($p>0,05$). Entretanto, em números absolutos o fêmur mostrou padrão heterogêneo na resposta biomecânica,

em que os grupos tratados com dieta hipercalórica, associada ou não ao fitoterápico necessitou de uma menor força para compressão da cabeça do fêmur, indicando uma maior fragilidade óssea na epífise proximal do fêmur nos ratos tratados com dieta hipercalórica e que o fitoterápico não interferiu na qualidade do osso.

Tabela 7. Valores médios e desvio padrão da força máxima (FM), deslocamento da força máxima (DFM) e rigidez relativa (RR) do fêmur de ratos Wistar aos 160 dias de idade, tratados com dieta hipercalórica associada ou não à antocianinas.

GRUPO	FM (N)	DFM (mm)	RR (N/mm)
Controle	135,45 ± 19,88	0,53 ± 0,08	260 ± 42,66
Hipercalórica	115,91 ± 17,32	0,53 ± 0,06	241,61 ± 47,1
Fitoterápico	135,59 ± 35,85	0,56 ± 0,06	261,35 ± 75,87
Hiperc. + Fitot.	118,63 ± 16,13	0,59 ± 0,12	204,43 ± 54,22
CV (%)	18,41	16,14	23,11
P- value	0,1280	0,3784	0,1037

CV= Coeficiente de variação. Médias com letras distintas nas colunas são significativas no nível de 0,05 pelo teste de Tukey

Similar aos nossos achados, Soares et al. (2012) relataram que as propriedades mecânicas da cabeça do fêmur de ratos sofreram modificações, maior fragilidade, quando associados à dieta rica em gordura em relação ao grupo controle. Battha et al. (2015) relataram diminuição do volume e da espessura do osso trabecular de ratos tratados com dieta rica em gordura e sacarose durante 28 semanas, resultando na maior fragilidade óssea do osso trabecular. Sugere-se que ratos tratados com dieta hipercalórica apresentaram maior fragilidade na região da cabeça do fêmur e colo femoral em relação aos grupos que não receberam esse tipo de dieta. Como a epífise proximal contém representativa concentração de osso trabecular, acredita-se, que, devido ao elevado metabolismo desse tipo de tecido, a perda óssea é observável aos 180 dias de idade (Tabela 7).

6. CONCLUSÕES

Indivíduos que ingerem dieta hipercalórica mas fazem uso da associação de antocianinas, ácidos hidroxicinâmicos e vitamina C apresentam redução da porcentagem de gordura após quatro meses de tratamento. Desta forma, a referida associação pode ser utilizada por pacientes que tem dificuldade em restringir a ingestão calórica mas desejam reduzir a porcentagem de gordura corporal.

Embora a densidade mineral óssea do fêmur não seja influenciada pela dieta, a ingestão de alta concentração de calorias durante quatro meses proporciona maior fragilidade óssea da região do colo e cabeça de fêmur, demonstrando que o tratamento com antocianinas, ácidos hidroxicinâmicos e vitamina C auxilia na redução de gordura e com isso, nos efeitos da obesidade sobre o tecido ósseo esponjoso.

Pacientes resistentes à mudança de hábitos alimentares são beneficiados pelo uso de ativos da laranja vermelha, graças ao aumento da massa magra, redução da porcentagem de gordura e preservação da qualidade óssea após tratamento durante quatro meses.

7. REFERÊNCIAS

Angélico LRN, Deminice R, Leme IA, Lataro RC, Jordão AA. 2012. Bioelectrical impedance analysis and anthropometry for the determination of body composition in rats: effects of high-fat and high-sucrose diets. **Revista de Nutrição, Campinas**, v. 25, n.3, p.331-339. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S1415-52732012000300003>>

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Fitoterápicos. 2004.

Bandeira F. 2007. A obesidade fortalece os ossos? **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia e Metabologia**, v. 51, n.6, p.895-897. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0004-27302007000600001> >

Battha A, Sangani R, Kolhe R, Toque HA, Cain M, Wong A, Howie N, Shinde R, Elsalanty M, Yao L, Chutkan N, Hunter M, Caldweel RB, Isales C, Caldwell RW, Fulzele S. 2015. Desregulation of arginase induces bone complications in high fat/high sucrose diet diabetic mouse model. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v.xxx, p.1-10. Doi: 10.1016/j.mce.2015.12.005.

Bernardi M. M, Spinosa HS, Ricci EL. 2011. A eficácia e segurança do insumo fitoterápico *Pholia Negra*. **Revista RX**, v.3, n.13.

Bernardis LL; Patterson BD. 1968 Correlation between "Lee index" and carcass fat content in weanling and adult female rats with hypothalamic lesions. **Journal of Endocrinology**, v. 40, n. 4, p. 527-8.

Berridge KC, Ho CY, Richard JM, Difeliceantonio AG. 2010. The tempted brain eats pleasure and desire circuits in obesity and eating disorders. **Brain Research**, v.1350, p.43-64. Doi: 10.1016/j.brainres.2010.04.003.

Bilezikian JP. 1996. **Principles of Bone Biology**. Ed. San Diego: Academic Press. v.1.

Borba AJ, Rocha MGM, Silva MF, Tibúrcio DTS, Pereira SAL, Reis LC, Júnior GT. 2011. Low-carbohydrate diet used for weight loss induces obesity in rats. **Revista de Nutrição**, v. 24, n. 4, p. 519-528. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S1415-52732011000400001> >

Cao JJ. 2011. Effects of obesity on bone metabolism. **Journal of Orthopaedic Surgery and Research**. v. 6, p. 3-7. Doi: 10.1186/1749-799X-6-30.

Cardile V, Graziano AC, Venditti A. 2015. Clinical evaluation of Moro (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) orange juice supplementation for the weight management. **Natural Product Research**, v.29, n.23, p.2256-2265. Doi: 10.1080/14786419.2014.1000897.

Cavalcanti RN, Santos DT, Meireles MAA. 2011. Non-thermal stabilization mechanisms of anthocyanins in model and food systems—An overview **Research International** v.44,n.2, p.499-509. Doi:10.1016/j.foodres.2010.12.007.

Diniz YS, Burneiko RM, Seiva FR, Almeida FQ, Galhardi CM, Filho JL, Manj F, Novelli EL. 2008. Diet compounds, glycemic index and obesity-related cardiac effects. **International Journal of Cardiology**, v.124, n.1, p. 92-99.

Duarte ACGO, Fonseca DF, Manzoni MSJ, Soave CF, Fiorese-Sene M, Dâmaso AR, Cheik NC. 2006. Dieta hiperlipídica e capacidade secretória de insulina em ratos. **Revista de Nutrição**, v.19, n.3, p. 341-348. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S1415-52732006000300005> >

Duque G. 2008. Bone and fat connection in aging bone. **Current opinion in Rheumatology**, v.20, n.4, p.429-434. Doi: 10.1097/BOR.0b013e3283025e9c.

Esser N, Legrand-Poels S, Piette J, Scheen AJ, Paquot N. 2014. Inflammation as a link between obesity, metabolic syndrome and type 2 diabetes. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v.105, n.2, p.141–150. Doi: 10.1016/j.diabres.2014.04.006.

Estrela DC, Silva WAM, Guimarães ATB, Mendes BO, Castro ALS, Torres ILS, Malafaia G. 2015. Predictive behaviors for anxiety and depression in female Wistar rats subjected to cafeteria diet and stress. **Physiology & Behavior**, v.151, p.252-263. doi: 10.1016/j.physbeh.2015.07.016.

Fujimoto WY, Bergstrom RW, Boyko EJ, Chen KW, Leonetti DL, Newel-Morris L, Shofer JB, Wahl PW. 1999. Visceral adiposity and incident coronary heart disease in Japanese American Men. **Diabetes Care**, v. 22, n.11, n. 11, p. 1808-1812.

Gac L, Kanaly V, Ramirez V, Teske JA, Pinto MP, Perez-Leighton CE. 2015. Behavioral characterization of a model of differential susceptibility to obesity induced by standar and personalized cafeteria diet feeding. **Physiology & Behavior**, v.152, p.315-322. Doi: 10.1016/j.physbeh.2015.10.001.

Gemalmaz A, Discigil G, Sensoy N, Basak O. 2007. Identifying osteoporosis in a primary care setting with quantitative ultrasound: relationship to anthropometric and lifestyle factors. **Journal Bone and Metabolism**, v.25, n.3, p.184-192.

Guimarães ALN, Tudury EA. 2006. Etiologias, consequências e tratamentos de obesidade em cães e gatos – Revisão. **Veterinária Notícias**, v.12, n.1, p.29-41.

Guimarães DED, Sardinha FLC, Mizurini DM, Carmo MGT. 2007. Adipocitocinas: uma nova visão do tecido adiposo. **Revista da Nutrição**, v. 20, n.5, p.549-559. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1590/S1415-52732007000500010>.>.

Gower BA, Casazza K. 2013. Divergent effects of obesity on bone health. **Journal of Clinical Densitometry: Assessment & Management of Musculoskeletal Health**, v.16, p. 450-454. Doi:10.1016/j.jocd.2013.08.010.

Grosso G, Galvano F, Mistretta A, Marventano S, Nolfo F, Calabrese G, Buscemi S, Drago F, Veronesi U, Scuderi A. 2013. Red Orange: Experimental Models and Epidemiological Evidence of Its Benefits on Human Health. **Hindawi Publishing Corporation Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v.2013,p.1-11. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1155/2013/157240>>

Hamrick MW, Della-Fera MA, Baile CA, Pollock NK, Lewis RD. 2009. Body fat as a regulator of bone mass: experimental evidence from animals models. **Clinical Reviews Bone Mineral Metabolism**, v. 7, n.3, p. 224-229.

Jequier E, Bray GA. 2002. Low-Fat Diets are Preferred. **The American Journal of Medicine** v. 113, n.9, p. 41-46. Doi:10.1016/S0002-9343(01)00991-3.

Joo H, Kim CT, Kim IH, Kim Y. 2013. Anti-obesity effects of hot water extract and high hydrostatic pressure extract of garlic in rats fed a high-fat diet. **Food and Chemical Toxicology**, v.55, p.100-105. Doi: 10.1016/j.fct.2012.12.044.

Khosla S. 2001. Minireview: the OPG/RANKL/RANK system. **Endocrinology**, v.142, n.12, p.5050–5055.

Kuriyan R, Raj t, Srinivas SK, Vaz M, Rajendran R, Kurpad AV. 2007. Effect of Caralluma fimbriata extract on appetite, food intake and anthropometry in adult Indian men and women. **Appetite**, v.43, n.3, p.338-344.

Lacey DL, Timms E, Tan HL, Kelley MJ, Dunstan CR, Burgess T, Elliott R, Colombero A, Elliott G, Scully S, Hsu H, Sullivan J, Hawkins N, Davy E, Capparelli C, Eli A, Qian YX, Kaufman S, Sarosi I, Shalhoub V, Senaldi G, Guo J, Delaney J, Boyle WJ. 1998. Osteoprotegerin ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation. **Cell**, v.93, n.2, p.165–176.

Leão ALM, Santos LC. 2012. Consumo de micronutrientes e excesso de peso: existe relação? Micronutrient consumption and overweight: Is there a relationship? **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v.15, n.1, p.85-95. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S1415-790X2012000100008>>

Lecka-Czernik B, Stechschulte LA, Czernk PJ, Dowling AR. 2015. High bone mass in adult mice with diet-induced obesity results from a combination of initial increase in bone mass followed by attenuation in bone formation; implications for high bone mass and decreased bone quality in obesity. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v.410, p.35–41. Doi:10.1016/j.mce.2015.01.001.

Lee HI, Yun KW, Seo KI, Kim MJ, Lee MK. 2014. Scopoletin prevents alcohol-induced hepatic lipid accumulation by modulation the AMPK- SREBP pathway in diet-induced obese mice. **Metabolism Clinical and Experimental**, v.63, p.593-601. doi: 10.1016/j.metabol.2014.01.003.

Liang L, Shao-qian C, Si-yi P. 2011. Thermal degradation kinetics of three kinds of representative anthocyanins obtained from blood Orange. **Agriculture Sciences in China**, v.10, n.4, p.642-649. doi:10.1016/S1671-2927(11)60046-1.

Linder D, Mueller M. 2014. Pet obesity management. **Veterinary Clinics: Small Animals Practices**, v. 44, p. 789-806.

Malafaia AB, Nassif PAN, Ribas CAPM, Ariede BL, Cruz MA. 2013. Indução da obesidade com sacarose em ratos. **ABCD Arquivos Brasileiro de Cirurgias Digestivas**, v.1, p.17-21. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0102-67202013000600005>>

Malvi P, Piprode V, Chaube B, Pote ST, Mittal M, Chatto padhyay N, Wani MR, Bhat MK. 2014. High fat diet promotes achievement of peak bone mass in young rats. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.455, p.133-138. Doi:10.1016/j.bbrc.2014.10.131.

Marques ACR, Gabbiatti GC, Gravena AAF, Amara V. 2015. Influência das dietas hipercalóricas sobre os parâmetros de obesidade, dislipidemia e hiperglicemia em ratos. **Saúde e Pesquisa**, v.8, n.1, p.1-8. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.17765/1983-1870.2015v8n1p55-62>

Martin-Ionova SS, Do SH, Barth HD, Szadkowska M, Porter AE, Ager III JW, Ager Jr JW, Alliston T, Vaisse C, Ritchie RO. 2010. Reduced size-independent mechanical properties of cortical bone in high-fat. **Bone**, v.46, n.1, p.217-225. Doi: 10.1016/j.bone.2009.10.015.

Montgomery MK, Hallahan NL, Brown SH, Liu M, Mitchell TW, Cooney GJ, Turner N. 2013. Mouse strain-dependent variation in obesity and glucose homeostasis response to high-fat feeding. **Diabetologia**, v.56, p.1129-1139. Doi: 10.1007/s00125-013-2846-8.

Mundy GR, 2007. **Osteoporosis and inflammation**. **Nutrition Reviews**, v. 65, p.147–151.

Murakami AE, Garcia ERM, Martins EM, Moreira I, Scapinello C, Oliveira AFG. 2009. Efeito da inclusão de óleo de linhaça nas rações sobre o desempenho e os parâmetros ósseos de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.7, p.1256-1264. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982009000700014>>

Nabavi SF, Russo GL, Daglia M, Nabavi SM. Role of quercetinas an alternative for obesity treatment: you are what you eat. 2015. **Food Chemistry**, v.179, p.305-310. Doi: 10.1016/j.foodchem.2015.02.006

Nagem TJ, Pereira WL, Oliveira TT, Pinto AS, Oliveira MGA, Stringheta PC. 1999. Efeitos de naringina e dos corantes naturais antocianina e carmim no metabolismo lipídico. **Revista Brasileira Farmacologia**, v.80, p.25- 28.

Navarro-Moreno MA, Alía-Ramos YP. 2006. Metabolismo ósseo, Vitamina D Y PTH. **Endocrinología y Nutrición**, v. 53, p. 199-208.

Navas LR, Lyles KW. 2002. Osteoporose. **Geriatrics Prática**. 3ª ed. Rio de Janeiro p. 211- 220.

Neves FA, Cortez E, Bernardo AF, Mattos ABM, Vieira NK, Malafaia TO, Thole AA, Rodrigues-Cunha ACS, Garcia-Souza EP, Sichieri R, Moura AS. 2014. Heart energy metabolismo impairment in Western-diet induced obese mice. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v.25, p.50-57. Doi:10.1016/j.jnutbio.2013.08.014.

Oh SR, Sul OJ, Kim YY, Kim HJ, Yu R, Suh JH, Choi HS, 2010. Saturated fatty acids enhance osteoclast survival. **Journal of Lipid Research**, v. 51, n.5, p.892–899. Doi: 10.1194/jlr.M800626.

Oliveira DM, Bastos DHM. 2011. Biodisponibilidade de ácidos fenólicos. Phenolic acids bioavailability. **Química Nova**, v.34, n.6, p. 1051-1056. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422011000600023> >

Pelizza MC. 2010. Uso de *Cereus* sp. e *Cordia ecalyculata* Vell como emagrecedores: uma revisão. Porto Alegre: UFRGS.

Pereira R, Menten JFM, Romano GG, Silva CLS, Zavarize KC, Barbosa NAA. 2012. Eficiência de uma fitase bacteriana na liberação de fósforo fítico em dietas de frangos de corte [*Efficiency of a bacterial phytase to release phytate phosphorus in broiler chicken diets*]. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.64, n.1, p.137-144. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-09352012000100020> >

Peng Z, Tuukkanen J, Zhang H, Jämsä T, Väänänen HK. 1994. The mechanical strength of bone in different rat models of experimental osteoporosis. **Bone**, v.15, n.5, p.523-532. Doi:10.1016/8756-3282(94)90276-3.

Pfeilschifter J, Koditz R, Pfohl M, Schatz H. 2002. Changes in proinflammatory cytokine activity after menopause. **Endocrine Reviews**, v.23, n.1, p.90–119.

Pollock NK. 2015. Childhood obesity, bone development, and cardiometabolic risk factors. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v.410, p.52-63. Doi:10.1016/j.mce.2015.03.016

Ratty AK, Das NP. 1988. Effects of flavonoids on nonenzymic lipid peroxidation: Structure activity relationship. **Biochemical Medicine Metabolic Biology**, v.39, n.1, p.69-79.

Rodrigues L, Mouta R, Costa AR, Pereira A, Silva FC, Amado F, Antunes CM, Lamy E. 2015. Effects of high-fat diet on salivary-amylase serum parameters and food consumption in rats. **Archives of Oral Biology**, v.60, n.6, p.854-862. Doi:10.1016/j.archoralbio.2015.02.015.

Rosen CJ, Bouxsein ML. 2006. Mechanisms of disease: is osteoporosis the obesity of bone? **Nature Clinical Practice Rheumatology**, v.2, n.1, p.35-43.

Rothweel NJ, Sotck MJ. 1979^a. Combined effects of cafeteria and tube-feeding on energy balance in the rat. **Proceedings of the Nutrition Society**, v.38, n.1, p.5^a

Sampey BP, Vanhoose AM, Winfield HM, Freemerman AJ, Muehlbauer MJ, Fueger PT, Newgard CB, Makowski L. 2011. Cafeteria diet is a robust model of human metabolic syndrome with liver and adipose inflammation: comparison to high-fat diet. **Obesity**, v.19, p.1109-1117. Doi: 10.1038/oby.2011.18

Samuel Wu YH, Chiu CH, Yang DJ, Lin YL, Tseng JK, Chen YC. 2013. Inhibitory effects of litchi (*Litchi chinensis* Sonn) flower water extracts on lipase activity and diet-induced obesity. **Journal of Functionals Foods**, v.5, n.2, p.923-929. Doi:10.1016/j.jff.2013.02.002.

Santos ACS, Alvarez MS, Brandão PB, Silva AG. 2007. *Garcinia cambogia*: uma espécie vegetal como recurso terapêutico contra a obesidade? **Natureza**, v.5, n.1, p.37-43.

Sclafani A, Springer D. 1976. Dietary obesity in adult rats: similarities to hypothalamic and human obesity syndromes. **Physiology and Behavior**, v.17, p.461-471. Doi:10.1016/0031-9384(76)90109-8.

Seedor JG. 1993. The bisphosphonate alendronate (MK-217) inhibit bone loss due to ovariectomy in rats. **Journal Bone Mineral Research**, v.4, n.4, p.265-270.

Shapses SA, Sukumar D. 2012. Bone metabolism in obesity and weight loss. **Annual Review of Nutrition**, v.32, p.287-309. Doi: 10.1146/annurev.nutr.012809.104655.

Shen CL, Zhu W, Gao W, Wang S, Chen L, Chyu MC. 2013. Energy-restricted diet benefits body composition but degrade integrity in middle-aged obese female rats. **Nutrition Research**, v.33, n.8, p. 668-676. Doi: 10.1016/j.nutres.2013.05.008.

Shen CL, Han J, Wang S, Chung E, Chyu MC, Cao J. 2015. Green tea supplementation benefits body composition and improves bone properties in obese female rats fed with high-fat diet and caloric restricted diet. **Nutrition Research**, v.35, p.1095-1105. Doi: 10.1016/j.nutres.2015.09.014.

Soares EA, Nakagaki WR, Garcia JA, Camilli JA. 2012. Effect of Hyperlipidemia on Femoral Biomechanics and Morphology in Low-Density Lipoprotein Receptor Gene Knockout Mice. **Journal of Bone and Mineral Metabolism**, v.30, n.4, p.419-425. doi: 10.1007/s00774-011-0345-x.

Steyer TE, Ables A. 2009. Complementary and alternative therapies of weight loss. **Primary Care: Clinics in Office Practice**, v.36, n.2, p.395-406. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.pop.2009.01.011>>

Tintut R, Morony S, Demer L. 2004. Hyperlipidemia promotes osteoclastic potential of bone marrow cells ex vivo. **Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology**, v. 24, n.2, p. 6-10.

Titta L, Trinei M, Stendardo M, Berniakovich I, Petroni K, Tonelli C, Riso P, Porrini M, Minucci S, Pelicci PG, Rapisarda P, Recupero GR, Giorgio M. 2009. Blood Orange juice inhibits fat accumulation in mice. **International Journal of Obesity**, v.34, n.3, p.578-88. Doi: 10.1038/ijo.2009.266.

Trunova VA, Sidorina AV, Zvereva VV, Churinb BV, Starkovad EV, Sorokoletov DS. 2016. Content of bioelements in the lungs and liver in rats with alimentary obesity. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v.33, p.95-99. Doi: 10.1016/j.jtemb.2015.08.005.

Tsuda T, Horio F, Uchida K, Aoki H, Osawa T. 2003. Dietary cyanidin 3-O-b-D-glucoside-rich purple corn color prevents obesity and ameliorates hyperglycemia in mice. **Journal of Nutrition**, v.133, n.7, p. 2125-2130.

Tsuda T, Ueno Y, Yoshikawa T, Kojo H, Osawa T. 2006. Microarray profiling of gene expression in human adipocytes in response to anthocyanins. **Biochemical Pharmacology**, v. 71, n.8, p.1184-1197.

Vandanmagsar B, Youm YH, Ravussin A, Galgani JE, Stadler K, Mynatt RL, Ravussin E, Stephens JM, Dixit VD. 2011. The NLRP3 inflammasome instigates obesity-induced inflammation and insulin resistance. **Nature Medicine**, v.17, n.2, p.179–188. Doi: 10.1038/nm.2279.

Vega D, Maalouf NM, Sakhaee K. 2007. CLINICAL Review: the role of receptor activator of nuclear factor-kappaB (RANK)/RANK ligand/osteoprotegerin: clinical implications. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v.92, n.12, p.4514–4521.

Yang X, Yang L, Zheng H. 2010. Hypolipidemic and antioxidante effects of mulberry (*Morus alba* L.) fruit in hyperlipidemia rats. **Food and Chemical Toxicology**, v.48, n.8, p.2374-2379. Doi: 10.1016/j.fct.2010.05.074.

Yasuda H, Shima N, Nakagawa N, Yamaguchi K, Kinosaki M, Mochizuki S, Tomoyasu A, Yano K, Goto M, Murakami A, Tsuda E, Morinaga T, Higashio K, Udagawa N, Takahashi N, Suda T. 1998. Osteoclast differentiation factor is a ligand for osteoprotegerin/ osteoclastogenesis-inhibitory factor and is identical to TRANCE/RANKL. **Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.A.** v.95, n.7, p.3597–3602.

You L, Sheng ZY, Tang CL, Chen L, Pan L, Chen JY. 2011. High Cholesterol Diet Increases Risk Via Inhibiting Bone Formation in Rats. **Acta Pharmacologica Sinica**, v.32, n.12, p.1498-1504. Doi: 10.1038/aps.2011.135.

Zhao LJ, Jiang H, Papasian CJ, Maulik D, Drees B, Hamilton J, Deng HW. 2008. Correlation of obesity and osteoporosis: effects of fat mass on the determination of osteoporosis. **Journal of Bone Mineral Research**, v.23, n.1, p.17-29.

Zhang ZF, Zheng LJ, Wu DM, Hu B, Shan Q, Cheng W, Li MQ, Sun YY. 2013. Purple sweet potato color attenuates hepatic insulin resistance via blocking oxidative stress and endoplasmic reticulum stress in high-fat-diet-treated mice. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v.24, n.6, p.1008–1018. Doi: 10.1016/j.jnutbio.2012.07.009.