

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**  
**“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”**  
**FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA**  
**CÂMPUS DE ARAÇATUBA**

**ARIANA APARECIDA FERREIRA PEREIRA**

**Uso do chá mate (*Ilex paraguariensis*) descafeinado na prevenção  
do dano oxidativo e das alterações ósseas em ratos Wistar obesos**

Araçatuba

2021

**ARIANA APARECIDA FERREIRA PEREIRA**

**Uso do chá mate (*Ilex paraguariensis*) descafeinado na prevenção do dano oxidativo e das alterações ósseas em ratos Wistar obesos**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutora em Ciência Animal (Fisiopatologia Médica e Cirúrgica).

Orientador: Prof. Dr. Paulo César Ciarlini  
Coorientadora: Profa. Dra. Ana Cláudia de Melo Stevanato Nakamune

Araçatuba

2021

P436u Pereira, Ariana Aparecida Ferreira  
Uso do chá mate (*Ilex paraguariensis*) descafeinado na prevenção do dano oxidativo e das alterações ósseas em ratos Wistar obesos / Ariana Aparecida Ferreira Pereira. -- Araçatuba, 2021  
96 f. : tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Medicina Veterinária, Araçatuba

Orientador: Paulo César Ciarlini

Coorientadora: Ana Cláudia de Melo Stevanato Nakamune

1. Antioxidantes. 2. Obesidade. 3. Osso. 4. Refrigerante. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária, Araçatuba. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

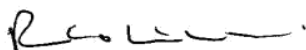
Título: USO DO CHÁ MATE (ILEX PARAGUARIENSIS) DESCAFEINADO NA PREVENÇÃO DO DANO OXIDATIVO E DAS ALTERAÇÕES ÓSSEAS EM RATOS WISTAR OBESOS

AUTORA: ARIANA APARECIDA FERREIRA PEREIRA

ORIENTADOR: PAULO CÉSAR CIARLINI

COORIENTADORA: ANA CLAUDIA DE MELO STEVANATO NAKAMUNE

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em CIÊNCIA ANIMAL, área: Fisiopatologia Médica e Cirúrgica pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. PAULO CÉSAR CIARLINI (Participação Virtual)  
Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba - UNESP

Prof. Dr. FABIANO ANTONIO CADIOLI (Participação Virtual)  
Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/Unesp

Profa. Dra. SUELY REGINA MOGAMI BOMFIM (Participação Virtual)  
Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba - UNESP

Prof. Dr. ANTONIO HERNANDES CHAVES NETO (Participação Virtual)  
Departamento de Ciências Básicas / Faculdade de Odontologia de Araçatuba-UNESP

Prof. Dr. BRENO FERNANDO MARTINS DE ALMEIDA (Participação Virtual)  
Curso de Medicina Veterinária / Centro Universitário das Faculdades Integradas de Ourinhos - UNIFIO - Ourinhos

Araçatuba, 12 de fevereiro de 2021.

**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

**Título:** USO DO CHÁ MATE (ILEX PARAGUARIENSIS) DESCAFEINADO NA PREVENÇÃO DO DANO OXIDATIVO E DAS ALTERAÇÕES ÓSSEAS EM RATOS Wistar OBESOS

**AUTORA:** ARIANA APARECIDA FERREIRA PEREIRA

**ORIENTADOR:** PAULO CÉSAR CIARLINI

**COORIENTADORA:** ANA CLAUDIA DE MELO STEVANATO NAKAMUNE

**Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em CIÊNCIA ANIMAL, área: Fisiopatologia Médica e Cirúrgica pela Comissão Examinadora:**

**Prof. Dr. PAULO CÉSAR CIARLINI (Participação Virtual)**

**Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba - UNESP**

**Prof. Dr. FABIANO ANTONIO CADIOLI (Participação Virtual)**

**Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/Unesp**

**Profa. Dra. SUELY REGINA MOGAMI BOMFIM (Participação Virtual)**

**Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba - UNESP**

**Prof. Dr. ANTONIO HERNANDES CHAVES NETO (Participação Virtual) Departamento de Ciências Básicas / Faculdade de Odontologia de Araçatuba-UNESP**

**Prof. Dr. BRENO FERNANDO MARTINS DE ALMEIDA (Participação Virtual)**

**Curso de Medicina Veterinária / Centro Universitário das Faculdades Integradas de Ourinhos - UNIFIO Ourinhos**

**Araçatuba, 12 de fevereiro de 2021.**



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Araçatuba

**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

Título: USO DO CHÁ MATE (ILEX PARAGUARIENSIS) DESCAFEINADO NA PREVENÇÃO DO DANO OXIDATIVO E DAS ALTERAÇÕES ÓSSEAS EM RATOS Wistar OBESOS

AUTORA: ARIANA APARECIDA FERREIRA PEREIRA  
ORIENTADOR: PAULO CÉSAR CIARLINI  
COORIENTADORA: ANA CLAUDIA DE MELO STEVANATO NAKAMUNE

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em CIÊNCIA ANIMAL, área: Fisiopatologia Médica e Cirúrgica pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. PAULO CÉSAR CIARLINI (Participação Virtual)  
Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba - UNESP

Prof. Dr. FABIANO ANTONIO CADIOLI (Participação Virtual)  
Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/Unesp

  
Profa. Dra. SUELY REGINA MOGAMI BOMFIM (Participação Virtual)  
Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba - UNESP

Prof. Dr. ANTONIO HERNANDES CHAVES NETO (Participação Virtual)  
Departamento de Ciências Básicas / Faculdade de Odontologia de Araçatuba-UNESP

Prof. Dr. BRENO FERNANDO MARTINS DE ALMEIDA (Participação Virtual)  
Curso de Medicina Veterinária / Centro Universitário das Faculdades Integradas de Ourinhos - UNIFIO - Ourinhos

Araçatuba, 12 de fevereiro de 2021.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Araçatuba

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título: USO DO CHÁ MATE (ILEX PARAGUARIENSIS) DESCAFEINADO NA PREVENÇÃO DO DANO OXIDATIVO E DAS ALTERAÇÕES ÓSSEAS EM RATOS Wistar OBESOS

AUTORA: ARIANA APARECIDA FERREIRA PEREIRA

ORIENTADOR: PAULO CÉSAR CIARLINI

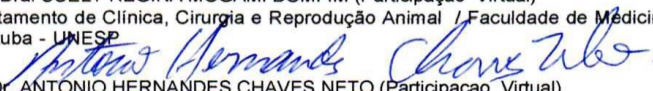
COORDENADORA: ANA CLAUDIA DE MELO STEVANATO NAKAMUNE

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em CIÊNCIA ANIMAL, área: Fisiopatologia Médica e Cirúrgica pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. PAULO CÉSAR CIARLINI (Participação Virtual)  
Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba - UNESP

Prof. Dr. FABIANO ANTONIO CADIOLI (Participação Virtual)  
Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/Unesp

Profa. Dra. SUELY REGINA MOGAMI BOMFIM (Participação Virtual)  
Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba - UNESP

  
Prof. Dr. ANTÔNIO HERNANDES CHAVES NETO (Participação Virtual)  
Departamento de Ciências Básicas / Faculdade de Odontologia de Araçatuba-UNESP

Prof. Dr. BRENO FERNANDO MARTINS DE ALMEIDA (Participação Virtual)  
Curso de Medicina Veterinária / Centro Universitário das Faculdades Integradas de Ourinhos - UNIFIO - Ourinhos

Araçatuba, 12 de fevereiro de 2021.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Araçatuba

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título: USO DO CHÁ MATE (ILEX PARAGUARIENSIS) DESCAFEINADO NA PREVENÇÃO DO DANO OXIDATIVO E DAS ALTERAÇÕES ÓSSEAS EM RATOS WISTAR OBESOS

AUTORA: ARIANA APARECIDA FERREIRA PEREIRA

ORIENTADOR: PAULO CÉSAR CIARLINI

COORIENTADORA: ANA CLAUDIA DE MELO STEVANATO NAKAMUNE

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em CIÊNCIA ANIMAL, área: Fisiopatologia Médica e Cirúrgica pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. PAULO CÉSAR CIARLINI (Participação Virtual)

Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba - UNESP

Prof. Dr. FABIANO ANTONIO CADIOLI (Participação Virtual)

Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/Unesp

Profa. Dra. SUELY REGINA MOGAMI BOMFIM (Participação Virtual)

Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba - UNESP

Prof. Dr. ANTONIO HERNANDES CHAVES NETO (Participação Virtual)

Departamento de Ciências Básicas / Faculdade de Odontologia de Araçatuba-UNESP

*Chmuda*  
Prof. Dr. BRENO FERNANDO MARTINS DE ALMEIDA (Participação Virtual)

Curso de Medicina Veterinária / Centro Universitário das Faculdades Integradas de Ourinhos - UNIFIO - Ourinhos

Araçatuba, 12 de fevereiro de 2021.



*Dedico este trabalho aos meus pais, Silvana e Adair, e à minha irmã Arielle por sempre acreditarem em meu potencial, pelo apoio e compreensão durante esta jornada e por estarem sempre ao meu lado me motivando a seguir em frente. Amo imensamente vocês, serei eternamente grata por tudo que fizeram por mim.*

## **AGRADECIMENTOS**

À minha família, por todo amor, cuidado, carinho e incentivo para realização deste trabalho.

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, na pessoa do diretor da Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba Prof. Titular Iveraldo dos Santos Dutra e do vice-diretor Prof. Associado Alicio Martins Júnior.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Paulo César Ciarlini, por toda dedicação, paciência, incentivo e por me orientar não só para a realização deste trabalho, mas também para que eu possa me tornar uma boa profissional. Obrigada pela confiança depositada em mim e por todos os momentos de ensinamento e aprendizagem.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, pelo apoio financeiro para a realização da pesquisa. Processo nº 2017/07628-6.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pela concessão da bolsa de doutorado.

À Profa. Dra. Ana Cláudia de Melo Stevanato Nakamune, pela coorientação e apoio ao longo do desenvolvimento deste projeto, por sempre me incentivar e pela amizade sincera.

Aos Prof. Dr. Fabiano Antonio Cardioli, Profa. Dra. Suely Regina Mogami Bomfim, Prof. Dr. Antonio Hernandes Chaves Neto e Prof. Dr. Breno Fernando Martins de Almeida, pela presença na comissão examinadora e contribuições para este trabalho.

À Profa. Dra. Suely Regina Mogami Bomfim, por toda ajuda e ensinamentos e por sempre nos incentivar e ajudar nos momentos de dificuldade.

Ao grupo de pesquisa do Laboratório Clínico Veterinário - FMVA/UNESP, em especial Amanda e Rose, pelo apoio, longos dias de trabalho, dedicação, carinho e acima de tudo amizade. Obrigada por tudo, principalmente pelos momentos alegres que passamos juntos.

Ao grupo de pesquisa do Laboratório de Operações Unitárias da Faculdade de Engenharia – PUCRS, principalmente ao Prof. Dr. Eduardo Cassel, por disponibilizarem os chás e serem sempre solícitos.

Ao grupo de pesquisa do Laboratório de Bioquímica - FOA/UNESP, por fornecer ajuda e disponibilizar o laboratório para realizarmos algumas análises.

Ao Pedro Luís Florindo e Adão Ângelo Custódio do Departamento de Produção e Saúde Animal - FMVA/UNESP, por nos auxiliar em todas as etapas de experimentação e dedicação.

Aos amigos e professores do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal - FMVA/UNESP, pelos momentos agradáveis e apoio.

A todos os funcionários da FMVA/UNESP, pela disposição ao longo do desenvolvimento deste trabalho.

Aos meus amigos, por todo apoio e palavras de incentivo.

Enfim, quero demonstrar agradecimento a todos aqueles que, direta ou indiretamente, tornaram possível a realização desta tese.

**A todos meu sincero e profundo Muito Obrigada!**

*“O saber a gente aprende com os mestres e os livros. A sabedoria se aprende é com a vida e com os humildes”*

*Cora Coralina*

PEREIRA, A. A. F. **Uso do chá mate (*Ilex paraguariensis*) descafeinado na prevenção do dano oxidativo e das alterações ósseas em ratos Wistar obesos.** 2021. 94 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araçatuba, 2021.

## RESUMO

A obesidade é uma doença crônica e um dos principais problemas de saúde no mundo, sendo o consumo de alimentos como o refrigerante a base de cola (RBC) associado à obesidade e aos danos oxidativos e ósseos em humanos. A ingestão de chá mate (CM) pode minimizar os efeitos indesejáveis do excesso de gordura, porém é contraindicado aos sensíveis à cafeína. Neste trabalho verificamos se o CM descafeinado (CMD) mantém as propriedades antioxidantes, prevenção da obesidade e lesões ósseas da forma *in natura*. Foi realizado um estudo randomizado com mascaramento, em que 60 ratos foram distribuídos aleatoriamente em seis grupos (n = 10): controle (C); RBC, ratos tratados com RBC; CM, ratos tratados com CM; CMD, ratos tratados com CMD; RBC + CM e RBC + CMD. O grupo controle foi comparado aos demais quanto a sua constituição corporal (peso e Índice de Lee) e perfil bioquímico plasmático [triglicerídeos, colesterol total, fosfatases alcalina (FA), cálcio total (Ca), leptina, adiponectina, osteocalcina (OCN), osteoprotegerina (OPG) e fosfatase ácida resistente ao tartarato (TRAP)]. Para quantificar o estresse oxidativo (EO) e a lesão tecidual foram mensuradas a densidade mineral óssea areal (DMOa), as substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), as atividades de superóxido dismutase (SOD) e glutatona peroxidase (GPx). O CMD mantém propriedades benéficas da forma *in natura* quanto ao controle da obesidade e EO ósseo, sendo uma alternativa promissora dietética e fitoterápica para indivíduos sensíveis à cafeína.

**Palavras-chave:** Antioxidantes. Obesidade. Osso. Refrigerante.

PEREIRA, A. A. F. **Use of decaffeinated mate tea (*Ilex paraguariensis*) to prevent oxidative damage and bone changes in obese Wistar rats.** 2021. 94 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araçatuba, 2021.

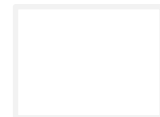
### **ABSTRACT**

Obesity is a chronic disease and one of the main health problems in the world, with the consumption of foods such as cola soft drinks (CSD) associated with obesity and oxidative and bone damage in humans. Intake of mate tea (MT) can minimize the undesirable effects of excess fat, however, this tea is contraindicated in humans and animals sensitive to caffeine. Accordingly, we investigated the hypothesis that the decaffeinated mate tea (DMT) maintaining the antioxidant properties and prevention of obesity *in natura* of the bone lesions. A systematic review was carried out based on the suggested hypothesis. Furthermore, there was randomized and blind study, where 60 rats were randomly assigned to six groups (n = 10): control (C); CSD, rats treated with CSD; MT, rats treated with DMT; CSD + MT and CSD + DMT. The control group was compared to the others regarding its body constitution (weight and Lee index) and plasma biochemical profile (triglycerides, total cholesterol, alkaline phosphatases (FA), total calcium (Ca), leptin, adiponectin, osteocalcin (OCN), osteoprotegerin (OPG) and tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP)). To quantify the oxidative stress OS and tissue lesion, the bone mineral density areal (BMDa), the reactive substances to thiobarbituric acid (TBARS), the activities of superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GPx) were measured. The DMT maintains beneficial properties of the *in natura* form regarding the control of obesity and bone OS, being a promising dietary and herbal alternative for individuals sensitive to caffeine.

**Keywords:** Antioxidants. Obesity. Bone. Soft drink.

## SUMÁRIO

1 REVISÃO SISTEMÁTICA DA LITERATURA.....	17
1.1 Contextualização do problema.....	17
1.2 Pesquisa bibliográfica.....	18
1.2.1 Critérios de eleição.....	20
1.2.2 Coleta de dados.....	21
1.2.3 Classificação e avaliação dos estudos.....	21
1.3 Resultados.....	21
1.4 Objetivo.....	41
REFERÊNCIAS.....	41
2 CAPÍTULO 1 - O CONSUMO DE CHÁ MATE ( <i>ILEX PARAGUARIENSIS</i> ) DESCAFEINADO PREVINE A OBESIDADE E O ESTRESSE OXIDATIVO ÓSSEO EM RATOS.....	55
2.1 Resumo.....	56
2.2 Abstract.....	57
2.3 Introdução.....	58
2.4 Material e métodos.....	59
2.4.1 Chá mate.....	59
2.4.2 Animais.....	60
2.4.3 Delineamento.....	60
2.4.4 Dimensionamento amostral, randomização, mascaramento e critérios de exclusão.....	61
2.4.5 Coleta das amostras.....	61
2.4.6 Análises plasmáticas.....	61
2.4.7 Análises ósseas.....	62
2.4.8 Análise estatística.....	62
2.5 Resultados.....	62
2.5.1 Propriedade antioxidante do chá mate descafeinado.....	62
2.5.2 Composição corporal e ingestão alimentar e de água.....	63
2.5.3 O consumo de CM ou CMD preveniu a obesidade induzida pelo consumo de refrigerante.....	63



2.5.4 O consumo de CM ou CMD preveniu o estresse oxidativo ósseo na obesidade induzida pelo consumo de refrigerante.....	65
2.5.5 A ingestão de CM ou CMD preveniu as alterações ósseas decorrentes da obesidade induzida pelo consumo de refrigerante.....	65
2.6 Discussão.....	67
2.7 Agradecimentos .....	71
2.8 Contribuições dos autores.....	72
2.9 Conflitos de interesse.....	72
REFERÊNCIAS.....	72
ANEXO A – COMITÊ DE ÉTICA.....	81
ANEXO B - NORMA DE PUBLICAÇÃO DA REVISTA.....	82



# 1 REVISÃO SISTEMÁTICA DA LITERATURA

## 1.1 Contextualização do problema

A obesidade é um problema de saúde pública caracterizada por uma inflamação que afeta vários tecidos e pode levar ao desenvolvimento de resistência à insulina, hiperlipidemia, doença hepática gordurosa não alcoólica, hipertensão, disfunção cardiovascular e distúrbios neurodegenerativos (FEIJÓ et al., 2019). Atualmente, estima-se que cerca de dois terços da população mundial vivam em países onde há mais mortes associadas a doenças relacionadas à obesidade do que à desnutrição (FERRETTI; MARIANI, 2019). As últimas projeções sugerem que em 2030 cerca de 57,8% da população adulta mundial possa estar acima do peso (FERRETTI; MARIANI, 2019).

O aumento da prevalência da obesidade está relacionado a mudanças no estilo de vida, incluindo o consumo de dieta hipercalórica (BUROKAS et al., 2017). Para avaliar os efeitos desse padrão alimentar na saúde, a administração de dieta de cafeteria é um modelo experimental consolidado, representando a ingestão alimentar de sociedades modernas, capaz de induzir obesidade, intolerância à glicose e inflamação em ratos (FEIJÓ et al., 2019). O refrigerante representa um importante componente dessa dieta (PALDÁNIUS et al., 2012).

O consumo de refrigerante aumentou nos últimos anos em todo o mundo (GORYAKIN; MONSIVAIS; SUHRCKE, 2017). A ingestão média de açúcar pelos americanos representa 15,8% da energia total consumida diariamente, sendo que uma dose de refrigerante (0,35 L) em média equivale a 10 colheres de chá de açúcar, dose capaz de levar a um ganho de peso de 6,75 kg/ano (APOVIAN, 2004). Em humanos, foi confirmada a correlação entre a ingestão dessa bebida, obesidade, diabetes mellitus (BASU et al., 2013; GREENWOOD et al., 2014) e doença cardiovascular (CARILLON et al., 2013).

Reabsorção, formação e fratura ósseas têm sido associadas ao consumo de refrigerante a base de cola (RBC). O excesso de açúcar contido nos refrigerantes e sua acidez podem alterar o remodelamento ósseo (PALDÁNIUS et al., 2012; SCIALLA; ANDERSON, 2013; MANGANO et al., 2014). Já a ingestão de cafeína em excesso (> 300 mg/dia) causa perda óssea em mulheres pós-menopausadas (FARAG; AHMAD; GAMAL, 2016). Animais cuja obesidade foi induzida pela dieta apresentam maior densidade mineral óssea (DMO). Numa primeira fase ocorre um efeito benéfico do peso na massa óssea devido ao aumento da carga mecânica, seguida por uma segunda fase da obesidade na qual a formação e a renovação ósseas diminuem devido a disfunção metabólica (LECKA-CZERNIK et al., 2015).

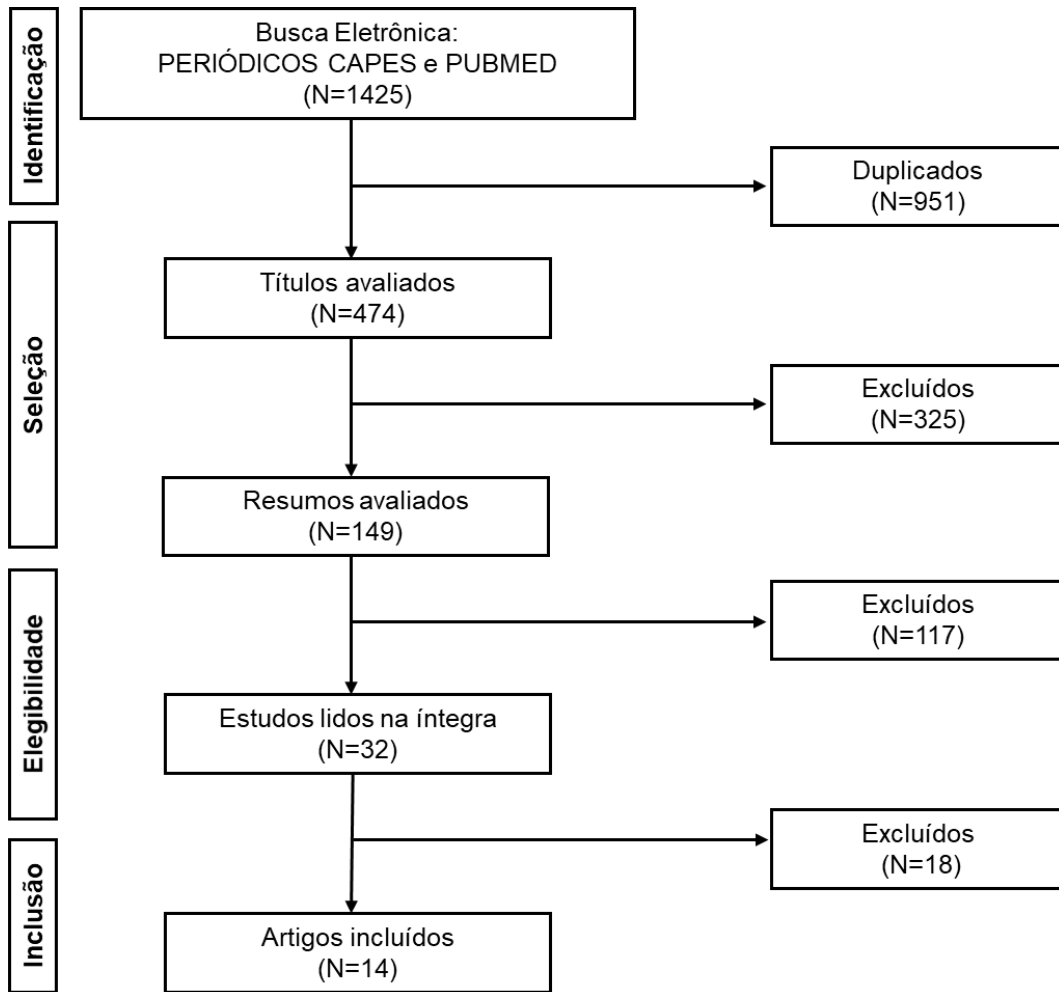
Plantas têm sido utilizadas para reduzir o peso, principalmente as termogênicas e as com ação inibidora das lipases (MALONE; TSAI, 2018). Há uma crescente procura por alternativas fitoterápicas (JOO et al., 2013; STEYER; ABLES, 2009), por serem considerados produtos naturais mais seguros que os anorexígenos sintéticos utilizados para o controle da obesidade (BERNARDI; SPINOSA; RICCI, 2011).

O chá mate (CM) é tradicionalmente consumido na América do Sul, particularmente na Argentina, Uruguai, Paraguai, Brasil, Bolívia e Chile (GAMBOA-GÓMEZ et al., 2015). Vários compostos biológicos conhecidos por seus efeitos no controle do estresse oxidativo (PEREIRA et al., 2017a), da osteoporose (CONFORTI; GALLO; SARAVÍ, 2012; DA VEIGA et al., 2018) e da obesidade (GAMBERO; RIBEIRO, 2015), como ácidos fenólicos (ácido clorogênico e ácido cafeico), flavonoides (quercetina, rutina e kaempferol), cafeína e saponinas foram identificados no mate (GAMBOA-GÓMEZ et al., 2015).

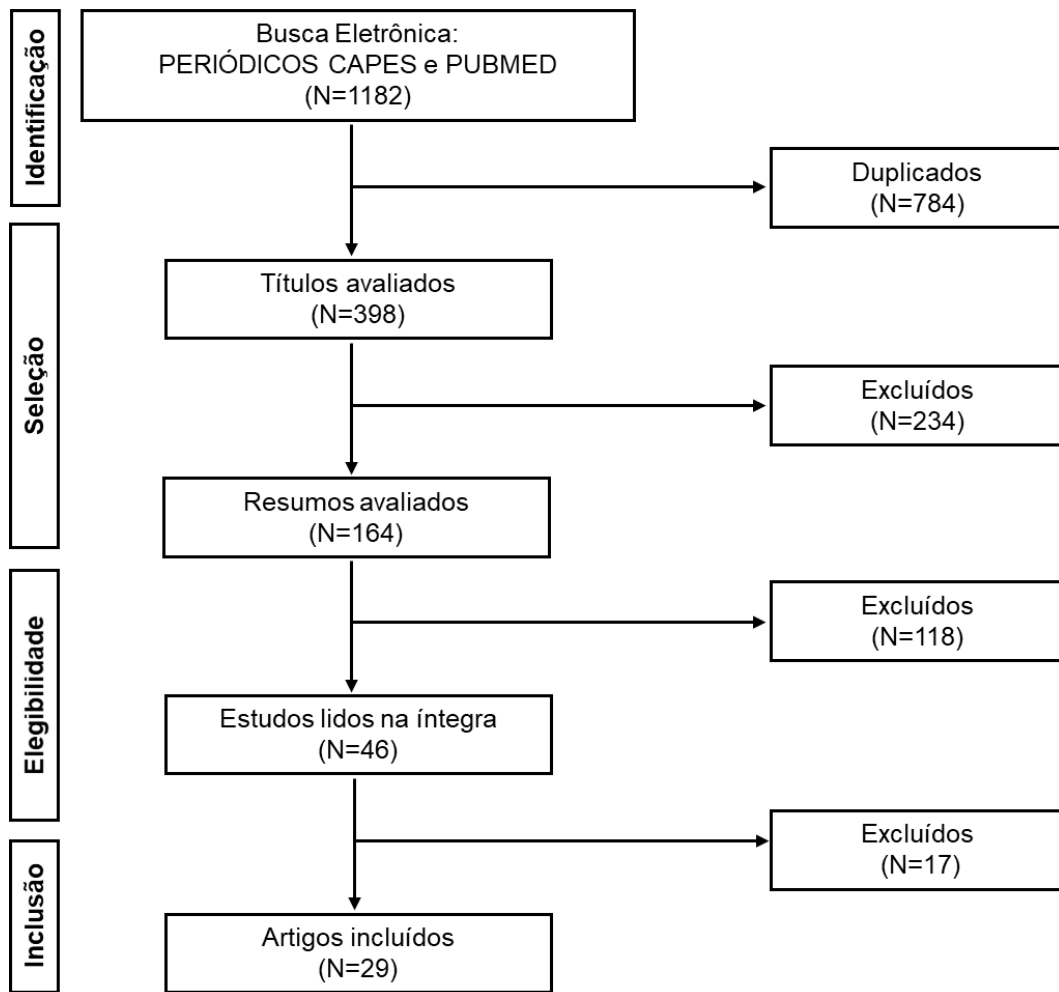
O teor de cafeína contido no CM comercializado é um fator limitante para seu consumo diário por pessoas hipertensas e sensíveis a esse composto. A descafeinação do mate seria uma alternativa, entretanto, é necessário investigar se o CM com baixo teor de cafeína possui as mesmas propriedades antioxidantes, de controle da obesidade e das lesões ósseas.

## 1.2 Pesquisa bibliográfica

Foi realizada uma revisão sistemática baseada na hipótese de que o uso do CM descafeinado (CMD) previne o dano oxidativo e as alterações ósseas em ratos Wistar obesos. Foram utilizadas as bases de dados eletrônicas PERIÓDICOS CAPES e PUBMED, complementadas com a revisão manual da lista de referências dos artigos obtidos e extensão da busca ao GOOGLE ACADÊMICO. Os termos de pesquisa foram baseados nos seguintes descritores do *Medical Subject Headings* (MeSH): *cafeteria diet, soft drink, soda beverage, cola drink, obesity, adiposity, oxidative stress, oxidative damage, bone, bone injury, bone damage, mate tea, yerba mate, Ilex paraguariensis* e *rat*. Os operadores booleanos **AND** e **OR** foram utilizados para combinar os termos na pesquisa. Duas estratégias de busca foram definidas relacionadas à indução de obesidade em ratos e efeito do chá mate em humanos e ratos. Toda a pesquisa foi limitada a artigos originais. Não houve limite de busca em relação a data de publicação, porém foram selecionados apenas textos escritos em inglês. As Figuras 1 e 2 mostram fluxogramas que resumem todas as etapas do processo de revisão sistemática destacando o número de estudos identificados em cada etapa, de acordo com o sistema PRISMA (MOHER et al., 2009).



**Figura 1.** Fluxograma do processo de seleção dos estudos incluídos na Revisão Sistemática referentes à indução de obesidade.



**Figura 2.** Fluxograma do processo de seleção dos estudos incluídos na Revisão Sistemática referentes ao efeito do chá mate.

### 1.2.1 Critérios de eleição

Os artigos foram selecionados com base nos títulos, resumos e conteúdo, e foram identificados como elegíveis para inclusão se atendessem aos seguintes critérios: (1) estudos experimentais (controlados randomizados e não randomizados) ou observacionais (transversais e caso-controle); (2) estudos revisados por pares; (3) estudos relatando a indução de obesidade através da dieta, principalmente pelo consumo de RBC; (4) estudos relatando a associação da obesidade ao aumento do estresse oxidativo e lesões ósseas; (5) estudos relatando o efeito da administração de CM na obesidade, estresse oxidativo e lesões ósseas. Os critérios de exclusão foram: (1) artigos com informações insuficientes para pesquisa; (2) artigos sem análise ajustada; (4) seleção amostral inadequada ou não descrita; (5) artigos de revisão.

### 1.2.2 Coleta dos dados

A extração das informações dos estudos selecionados foi realizada por meio de planilha Excel padronizada, utilizada para o registro de todos os dados e variáveis relevantes a serem analisados. Os dados extraídos foram os seguintes: primeiro autor e ano de publicação, tipo de estudo, descrição metodológica, tamanho amostral e principais achados [ingestão alimentar e de água, peso corporal, percentual de ganho de peso, Índice de Lee (BERNARDIS; PATTERSON, 1968), colesterol total, triglicerídeos, leptina, adiponectina, marcadores de estresse oxidativo e ósseos].

### 1.2.3 Classificação e avaliação dos estudos

O nível de evidência científica e grau de recomendação dos estudos incluídos foram determinados segundo a classificação de Oxford Centre for Evidence-Based Medicine (PHILLIPS et al., 2001). A Escala de Jadad foi utilizada para avaliar a qualidade dos trabalhos, essa Escala é uma ferramenta de cinco itens usada para relatar o risco de viés de ensaios clínicos e cada um de seus itens avalia a randomização, método de randomização, duplo cego, método de cegamento e notificação de perdas e exclusões, respectivamente (JADAD et al., 1996). A pontuação de Jadad varia de 0 a 5, sendo considerados de baixa qualidade valores menores que 3.

## 1.3 Resultados

De acordo com a busca eletrônica relacionada à indução de obesidade, 1425 artigos foram eleitos, dos quais 951 foram excluídos por duplicidade. Após leitura do título excluíram-se 325 trabalhos por não atenderem ao objetivo da revisão. Outros 149 resumos foram avaliados quanto à adequação aos critérios pré-estabelecidos, sendo 117 eliminados. Procedeu-se então à leitura completa dos 32 estudos restantes, dos quais 18 foram excluídos. Ao final de todo o processo, 14 artigos foram selecionados, incluindo oito estudos experimentais não randomizados e seis experimentais randomizados. Os trabalhos avaliados foram realizados entre 2000 e 2020, e estão descritos na Tabela 1. Todas as pesquisas foram classificadas como sendo de baixa qualidade, de acordo com a Escala de Jadad, oito trabalhos foram qualificados em 4/C (ALKHEDAIDE et al., 2016; ATHESH; JOTHI, 2017; CHEKKAL et al., 2019; EL-TERRAS et al., 2016; GARCÍA-CONTRERAS et al., 2000; NAVARRO et al., 2016; OGUR et al., 2007; SAGAE et al., 2018) e seis trabalhos em 2B/B (CARILLON et al., 2013; CAVAGNI et al., 2016; FEIJÓ et al., 2019; LEBDA; TOHAMY; EL-SAYED, 2017;

MACEDO et al., 2012; OTERO-LOSADA et al., 2016), de acordo com o nível de evidência/grau de recomendação. Portanto, os 14 artigos foram considerados pouco confiáveis levando em consideração a metodologia utilizada.

Dentre as 14 pesquisas, sete empregaram a dieta de cafeteria para indução da obesidade (CARILLON et al., 2013; CAVAGNI et al., 2016; FEIJÓ et al., 2019; LEBDA; TOHAMY; EL-SAYED, 2017; MACEDO et al., 2012; OTERO-LOSADA et al., 2016) e as outras sete optaram por utilizar o RBC (ALKHEDAIDE et al., 2016; EL-TERRAS et al., 2016; FEIJÓ et al., 2019; GARCÍA-CONTRERAS et al., 2000; LEBDA; TOHAMY; EL-SAYED, 2017; OGUR et al., 2007; OTERO-LOSADA et al., 2016), uma vez que nas últimas décadas o consumo de bebida com alto teor de açúcar aumentou significativamente e está associado ao ganho de peso (FEIJÓ et al., 2019).

García-Contreras et al. (2000) observaram diminuição da ingestão diária de alimentos após oito semanas de consumo de RBC por ratos, o que pode ser explicado pelo efeito de saciedade da bebida, pois essa redução está associada ao aumento do consumo de líquidos que foi três vezes maior quando comparado ao grupo controle.

A partir de quatro semanas do consumo de alimentos calóricos constatou-se aumento do peso final em três estudos (CAVAGNI et al., 2016; CHEKKAL et al., 2019; MACEDO et al., 2012). Em quatro pesquisas, duas que ofertaram dieta de cafeteria (ATHESH; JOTHI, 2017; CARILLON et al., 2013) e duas que alimentaram os animais com RBC (FEIJÓ et al., 2019; OGUR et al., 2007) foi verificado elevação em média de 1,5 vezes do percentual de ganho de peso. Ratos alimentados com dieta altamente energética exibiram maior Índice de Lee, índice de obesidade em roedores, em quatro trabalhos (CAVAGNI et al., 2016; MACEDO et al., 2012; SAGAE et al., 2018).

Oito autores e colaboradores (ATHESH; JOTHI, 2017; CARILLON et al., 2013; CAVAGNI et al., 2016; CHEKKAL et al., 2019; LEBDA; TOHAMY; EL-SAYED, 2017; MACEDO et al., 2012; OGUR et al., 2007; OTERO-LOSADA et al., 2016) observaram hipertrigliceridemia e hipercolesterolemia em ratos submetidos a dieta de cafeteria, comprovando a relação entre o aumento da adiposidade e os níveis elevados de triglicerídeos e colesterol total. Navarro et al. (2016) ofertaram por seis semanas dieta hipercalórica aos animais e constataram maior concentração de triglicerídeos. Sagae et al. (2018) que administraram a dieta por 10 semanas verificaram elevação de 66% de colesterol total.

A concentração de leptina foi determinada em seis estudos, quatro que alimentaram os ratos com dieta de cafeteria (ATHESH; JOTHI, 2017; CARILLON et al., 2013; MACEDO et al., 2012; NAVARRO et al., 2016) e dois com RBC (FEIJÓ et al., 2019; LEBDA; TOHAMY;

EL-SAYED, 2017), todos constataram seu aumento, uma vez que este peptídeo é sintetizado nos tecidos gordurosos e desempenha papel importante na regulação da ingestão de alimentos e consumo de energia (MACEDO et al., 2012).

Três autores e colaboradores (CARILLON et al., 2013; LEBDA; TOHAMY; EL-SAYED, 2017; NAVARRO et al., 2016) verificaram diminuição da concentração de adiponectina, que é expressa e secretada pelo tecido adiposo e tem atividades anti-inflamatória e antiaterogênica (LEBDA; TOHAMY; EL-SAYED, 2017).

A avaliação do estresse oxidativo foi realizada em 11 estudos, em seis foi confirmado aumento da peroxidação lipídica (ALKHEDAIDE et al., 2016; CHEKKAL et al., 2019; EL-TERRAS et al., 2016; FEIJÓ et al., 2019; LEBDA; TOHAMY; EL-SAYED, 2017; SAGAE et al., 2018) e cinco diminuição dos antioxidantes (ALKHEDAIDE et al., 2016; CARILLON et al., 2013; CHEKKAL et al., 2019; EL-TERRAS et al., 2016; LEBDA; TOHAMY; EL-SAYED, 2017), confirmando que a dieta rica em calorias induz dano oxidativo e altera a expressão antioxidante.

Quando se trata de lesão óssea relacionada a ingestão de alimentos hipercalóricos, García-Contreras et al. (2000) constataram diminuição da densidade mineral óssea, da atividade de fosfatase alcalina, marcador de formação óssea, e da concentração de cálcio. Cavagni et al. (2016) confirmaram maior percentual de perda óssea. Ogur et al. (2007) observaram menor quantidade de cálcio e aumento da densidade óssea. Alkhedaide et al. (2016) verificaram diminuição de cálcio e maior atividade de fosfatase alcalina e concentração de osteocalcina, marcador de formação óssea. A divergência de dados sugere que mais pesquisas devem ser realizadas para que a relação das alterações ósseas e do ganho de peso devido ao tipo de dieta seja melhor entendida.

**Tabela 1.** Características dos estudos incluídos na Revisão Sistemática, relativas a indução de obesidade

(continua)

<b>Autor/ano</b>	<b>Tipo de Estudo</b>	<b>Pontos Escala de Jadad</b>	<b>Nível de evidência/ grau de recomendação</b>	<b>População (idade)</b>	<b>Tamanho Amostral (n)</b>	<b>Intervenção ou Dieta</b>	<b>Duração</b>	<b>Resultados</b>	
<b>García-Contreras et al., 2000</b>	Experimental	0	4/C	Ratas Sprague-Dawley (9 meses)	40	Ovariectomia (OVX) e RBC	8 semanas	<b>Grupo OVX</b> ↑Ingestão alimentar ↑Ca ↑FA ↓DMO – fêmur	<b>Grupo OVX + RBC</b> ↓Ingestão alimentar ↓Ca ↓FA ↓DMO – fêmur
<b>Ogur et al., 2007</b>	Experimental	0	4/C	Ratos Sprague-Dawley (3 meses)	30	RBC	4 semanas	<b>Grupo RBC</b> ↑% Ganho de peso ↓Ca ↑Colesterol total ↑Triglicerídeos ↑DMO – fêmur	
<b>Macedo et al., 2012</b>	Experimental Randomizado	0	2B/B	Ratos Wistar (2 meses)	60	Dieta de cafeteria	6 semanas	<b>Grupo Dieta de Cafeteria</b> ↑Peso final ↑Índice de Lee ↑Leptina ↑Triglicerídeos ↑Colesterol total	
<b>Carillon et al., 2013</b>	Experimental Randomizado	0	2B/B	Hamsters Golden Syrian (1 mês)	17	Dieta de Cafeteria (DC) e Superóxido dismutase de melão – SODB (14 U/mg)	19 semanas	<b>Grupo DC</b> ↑% Ganho de peso ↑Triglicerídeos ↑Colesterol total ↑Leptina ↓Adiponectina ↓SOD	<b>Grupo DC + SODB</b> ↓% Ganho de peso ↓Colesterol total ↓Leptina ↑Adiponectina ↑SOD ↑GPx ↑CAT



**Tabela 1.** Características dos estudos incluídos na Revisão Sistemática, relativas a indução de obesidade

(continuação)

<b>Autor/ano</b>	<b>Tipo de Estudo</b>	<b>Pontos Escala de Jadad</b>	<b>Nível de evidência/ grau de recomendação</b>	<b>População (idade)</b>	<b>Tamanho Amostral (n)</b>	<b>Intervenção ou Dieta</b>	<b>Duração</b>	<b>Resultados</b>		
<b>Alkhedaide et al., 2016</b>	Experimental	0	4/C	Ratos Wistar (3 meses)	40	RBC: Coca-Cola, Pepsi e 7-UP	13 semanas	<b>Grupo Cola</b>	<b>Grupo Pepsi</b>	<b>Grupo 7-UP</b>
								↑MDA ↓GPx ↓Glutathiona redutase ↓CAT ↑FA ↓Ca ↑OCN ↓Colesterol total ↓Triglicerídeos	↑MDA ↓GPx ↓Glutathiona redutase ↓CAT ↑FA ↓Ca ↑OCN ↓Colesterol total ↓Triglicerídeos	↑MDA ↓GPx ↓Glutathiona redutase ↓CAT ↑FA ↓Ca ↑OCN ↓Colesterol total ↓Triglicerídeos
<b>Cavagni et al., 2016</b>	Experimental Randomizado	1	2B/B	Ratos Wistar (2 meses)	60	Dieta de Cafeteria (DC) e Periodontite (PERIO)	17 semanas	<b>Grupo DC</b>	<b>Grupo PERIO</b>	<b>Grupo DC + PERIO</b>
								↑Peso final ↑Índice de Lee ↑Triglicerídeos ↑Colesterol total ↑% Perda óssea	↓Peso final ↓Índice de Lee ↓Triglicerídeos ↓Colesterol total ↓% Perda óssea	↑Peso final ↑Índice de Lee ↑Triglicerídeos ↑Colesterol total ↑% Perda óssea
<b>El-Terras et al., 2016</b>	Experimental	0	4/C	Ratos Wistar (3 meses)	40	RBC: Coca-Cola, Pepsi e 7-UP	13 semanas	<b>Grupo Cola</b>	<b>Grupo Pepsi</b>	<b>Grupo 7-UP</b>
								↑MDA ↓GPx ↓CAT	↑MDA ↓GPx ↓CAT	↑MDA ↓GPx ↓CAT

**Tabela 1.** Características dos estudos incluídos na Revisão Sistemática, relativas a indução de obesidade

(continuação)

<b>Autor/ano</b>	<b>Tipo de Estudo</b>	<b>Pontos Escala de Jadad</b>	<b>Nível de evidência/ grau de recomendação</b>	<b>População (idade)</b>	<b>Tamanho Amostral (n)</b>	<b>Intervenção ou Dieta</b>	<b>Duração</b>	<b>Resultados</b>
<b>Navarro et al., 2016</b>	Experimental	0	4/C	Ratos Wistar (3 meses)	16	Dieta de cafeteria	6 semanas	<b>Dieta de cafeteria</b> ↑Triglicerídeos ↑Leptina ↓Adiponectina
<b>Otero-Losada et al., 2016</b>	Experimental Randomizado	0	2B/B	Ratos Wistar adultos	48	RBC (Coca-Cola)	26 semanas	<b>Grupo Coca-Cola</b> ↑Triglicerídeos ↑Colesterol total
<b>Athesh; Jothi, 2017</b>	Experimental	0	4/C	Ratos Wistar (2 meses)	12	Dieta de cafeteria	8 semanas	<b>Grupo Obeso</b> ↑% de Ganho de peso ↑Triglicerídeos ↑Colesterol total ↑Leptina
<b>Lebda et al., 2017</b>	Experimental Randomizado	0	2B/B	Ratos Wistar (2 meses)	30	RBC (Coca-Cola) e Aspartame (240 mg/Kg/dia)	8 semanas	<b>Grupo Aspartame</b> ↓FA ↑Triglicerídeos ↑Leptina ↓Adiponectina ↑MDA ↓GPx ↓SOD <b>Grupo Coca-Cola</b> ↑Colesterol total ↓FA ↑Triglicerídeos ↑Leptina ↓Adiponectina ↑MDA ↓GPx ↓SOD
<b>Sagae et al., 2018</b>	Experimental	0	4/C	Ratas Wistar (3 meses)	38	Dieta de cafeteria	10 semanas	<b>Dieta de cafeteria</b> ↑Índice de Lee ↑Colesterol total ↑TBARS

**Tabela 1.** Características dos estudos incluídos na Revisão Sistemática, relativas a indução de obesidade

(conclusão)

Autor/ano	Tipo de Estudo	Pontos Escala de Jadad	Nível de evidência/ grau de recomendação	População (idade)	Tamanho Amostral (n)	Intervenção ou Dieta	Duração	Resultados
<b>Feijó et al., 2019</b>	Experimental Randomizado	0	2B/B	Ratos Wistar (3 meses)	36	RBC	17 semanas	<b>Grupo Coca-Cola</b> ↑% Ganho de peso ↑Leptina ↑TBARS
<b>Chekkal et al., 2019</b>	Experimental	0	4/C	Ratos Wistar (1 mês)	16	Dieta de cafeteria	4 semanas	<b>Grupo Dieta de Cafeteria</b> ↑Ingestão alimentar ↑Peso final ↑Colesterol total ↑Triglicerídeos ↑TBARS ↓SOD ↓GPx ↓CAT

Fonte: Elaborado pelo autor

\*RBC = Refrigerante a Base de Cola, DMO = Densidade Mineral Óssea, FA = Fosfatase Alcalina, Ca = Cálcio, OCN = Osteocalcina, GPx = Glutathione Peroxidase, SOD = Superóxido Dismutase, CAT = Catalase, MDA = Malonaldeído e TBARS = *Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico*.

Em relação a busca eletrônica referente ao efeito do CM foram encontrados 1182 artigos, dos quais 784 foram excluídos por duplicidade. Após leitura do título excluíram-se 234 trabalhos por não atenderem ao objetivo da revisão. Foram avaliados 164 resumos quanto à adequação aos critérios pré-estabelecidos, sendo 118 eliminados. Procedeu-se então à leitura completa dos 46 artigos restantes, dos quais 17 foram excluídos. Por fim, 29 artigos foram selecionados, destes 22 trabalhos com ratos incluindo seis estudos experimentais não randomizados e 16 experimentais randomizados, e sete pesquisas com humanos incluindo um observacional transversal, três ensaios clínicos e três ensaios clínicos randomizados. As pesquisas eleitas foram desenvolvidas entre 2008 e 2020, e estão descritas nas Tabelas 2 e 3. Todos os artigos foram classificados de baixa qualidade, de acordo com a escala de Escala de Jadad. Dos estudos realizados com ratos, 16 foram classificados com nível de evidência 2B e grau de recomendação B (ARÇARI et al., 2009; BRASILINO et al., 2017; BRAVO et al., 2014; BRUN et al., 2015; CHOI et al., 2017; CONCEIÇÃO et al., 2017; FUJII et al., 2014; GAO et al., 2013; KANG et al., 2012; PEREIRA et al., 2017a, 2017b; PIMENTEL et al., 2013; SHEN et al., 2010, 2011, 2012, 2015) e o restante (seis trabalhos) nível de evidência 4 e grau de recomendação C (BARROSO et al., 2019; HUSSEIN et al., 2011b; MOLINA; BOLIN; OTTON, 2015; PANG J, CHOI Y et al., 2008; ROCHA et al., 2016; YILDIRIM et al., 2020). Quanto aos trabalhos com humanos, três foram qualificados em 2B/B (BALSAN et al., 2019; BOAVENTURA et al., 2012, 2015), três em 3B/B (ARÇARI et al., 2011; BECKER et al., 2019; MATSUMOTO et al., 2009) e um em 4C (CONFORTI; GALLO; SARAVÍ, 2012), de acordo com o nível de evidência/grau de recomendação. Considerando a classificação de Oxford e a Escala de Jadad, todos os artigos foram julgados pouco confiáveis.

Nas pesquisas com animais, a dieta rica em gordura foi ofertada em 11 dos artigos eleitos (ARÇARI et al., 2009; BARROSO et al., 2019; BRAVO et al., 2014; CHOI et al., 2017; GAO et al., 2013; KANG et al., 2012; PANG et al., 2008; PIMENTEL et al., 2013; SHEN et al., 2015, 2010, 2012), em apenas dois optou-se por oferecer dieta de cafeteria (MOLINA; BOLIN; OTTON, 2015; ROCHA et al., 2016) e em nenhum foi utilizado o RBC. Sabe-se que a exposição a uma dieta altamente energética pode afetar a geração e recepção de sinais que controlam o balanço de energia e de sinais indicadores de adiposidade que regulam a ingestão de alimentos e o metabolismo (PANG et al., 2008).

A maioria dos estudos (15 de 22) foi realizada com CM (ARÇARI et al., 2009; BARROSO et al., 2019; BRASILINO et al., 2017; BRAVO et al., 2014; BRUN et al., 2015; CHOI et al., 2017; CONCEIÇÃO et al., 2017; FUJII et al., 2014; GAO et al., 2013; HUSSEIN et al., 2011; KANG et al., 2012; PANG et al., 2008; PEREIRA et al., 2017a, 2017b;

PIMENTEL et al., 2013), as doses administradas foram em média de 545 mg/Kg e a duração do tratamento em torno de sete semanas. Desses 15 artigos, sete (ARÇARI et al., 2009; BRAVO et al., 2014; CONCEIÇÃO et al., 2017; FUJII et al., 2014; GAO H, LIU Z, QU X et al., 2013; HUSSEIN et al., 2011; PEREIRA et al., 2017a) determinaram a quantidade de polifenóis totais (média de 409 mg/g) pelo método de método de Folin-Ciocalteu (TAGA; MILLER; PRATT, 1984).

O chá verde foi administrado em seis trabalhos (MOLINA; BOLIN; OTTON, 2015; ROCHA et al., 2016; SHEN et al., 2010, 2011, 2012, 2015), todos ofertaram o chá na mesma dose (500 mg/Kg) e o período de tratamento foi em média de 14 semanas. Molina, Bolin e Otton (2015) e Rocha et al. (2016), também pelo método de Folin-Ciocalteu (TAGA; MILLER; PRATT, 1984), verificaram que há 392 µg/mg de polifenóis no chá verde. Apenas Yildirim et al. (2020) optaram pelo chá branco na dose de 500 mg por 12 semanas.

A determinação da ingestão alimentar foi realizada em cinco e a de água em apenas dois dos 22 trabalhos incluídos na revisão. Houve menor consumo de alimentos em 4 pesquisas (CONCEIÇÃO et al., 2017; HUSSEIN et al., 2011; KANG et al., 2012; PANG et al., 2008) e Pimentel et al. (2013) observaram maior consumo, após administração do CM. Quanto a ingestão de líquidos, Bravo et al. (2014) constataram diminuição e Barroso et al. (2019) aumento. Acredita-se que o CM afeta o controle do peso corporal em modelos obesos, devido diminuição da ingestão alimentar, o que torna seu consumo uma estratégia promissora para a prevenção e/ou reversão da obesidade.

O tratamento com os chás mate e verde foi eficaz em minimizar os efeitos do acúmulo de gordura. Redução do peso foi comprovada em nove pesquisas (ARÇARI et al., 2009; CHOI et al., 2017; CONCEIÇÃO et al., 2017; GAO et al., 2013; HUSSEIN et al., 2011; KANG et al., 2012; PANG et al., 2008; SHEN et al., 2012). Oito autores e colaboradores constataram menor percentual de ganho de peso (BARROSO et al., 2019; CHOI et al., 2017; FUJII et al., 2014; GAO et al., 2013; HUSSEIN et al., 2011; MOLINA; BOLIN; OTTON, 2015; PANG et al., 2008; ROCHA et al., 2016). Hipotrigliceridemia e hipocolesterolemia foram verificados em 10 estudos (ARÇARI et al., 2009; BRAVO et al., 2014; CHOI et al., 2017; FUJII et al., 2014; GAO et al., 2013; HUSSEIN et al., 2011; KANG et al., 2012; PANG et al., 2008). Conceição et al. (2017) observaram maior concentração de triglicerídeos e Rocha et al. (2016) de colesterol total. Níveis baixos de leptina foram confirmados em sete pesquisas (ARÇARI et al., 2009; CHOI et al., 2017; KANG et al., 2012; MOLINA; BOLIN; OTTON, 2015; PANG et al., 2008; SHEN et al., 2012, 2015) e altos de adiponectina em cinco (ARÇARI et al., 2009; HUSSEIN

et al., 2011b; MOLINA; BOLIN; OTTON, 2015; PIMENTEL et al., 2013; ROCHA et al., 2016).

O aumento do estresse oxidativo foi confirmado em oito artigos (BARROSO et al., 2019; BRASILINO et al., 2017; BRAVO et al., 2014; CONCEIÇÃO et al., 2017; GAO et al., 2013; MOLINA; BOLIN; OTTON, 2015; PEREIRA et al., 2017a, 2017b) que utilizaram as técnicas de quantificação de espécies reativas de oxigênio (ERO), peroxidação lipídica e determinação da capacidade antioxidante total e defesa antioxidante enzimática. A administração dos chás mate e verde foi eficaz em diminuir o dano oxidativo em todas essas oito pesquisas.

Em oito trabalhos (BRASILINO et al., 2017; BRUN et al., 2015a; PEREIRA et al., 2017b; SHEN et al., 2010, 2011, 2012, 2015; YILDIRIM et al., 2020) que avaliaram a densidade mineral, área e volume dos ossos dos animais constatou-se alterações ósseas. Além disso, cinco desses estudos, determinaram a concentração de cálcio, os marcadores de formação (fosfatase alcalina, osteocalcina e osteoprotegerina) e reabsorção (fosfatase ácida resistente ao tartarato, ligante do receptor ativador do fator nuclear Kappa  $\beta$  e telopeptídeo C-terminal) ósseos (BRASILINO et al., 2017; PEREIRA et al., 2017b; SHEN et al., 2010, 2011; YILDIRIM et al., 2020). Nos oito estudos foi comprovada a eficácia dos chás mate, verde e branco em minimizar o dano ósseo.

A administração de CM foi realizada nos sete artigos selecionados com humanos (ARÇARI et al., 2011; BALSAN et al., 2019; BECKER et al., 2019; BOAVENTURA et al., 2012, 2015; CONFORTI; GALLO; SARAVÍ, 2012; MATSUMOTO et al., 2009) e observou-se que a maioria deles foi desenvolvida com mulheres e homens saudáveis. As doses administradas foram em média de 320,6 mg e a duração do tratamento em torno de 42,2 semanas. Desses sete estudos, três (BECKER et al., 2019; BOAVENTURA et al., 2015; MATSUMOTO et al., 2009) determinaram a quantidade de polifenóis totais (média de 769,6 mg/g) pelo método de método de Folin-Ciocalteu (TAGA; MILLER; PRATT, 1984).

Quanto aos parâmetros referentes ao acúmulo de gordura, Conforti, Gallo e Saraví (2012) verificaram aumento do índice de massa corpórea e Balsan et al. (2019) maiores concentrações de colesterol total, triglicerídeos e leptina. O CM teve efeito positivo em todas essas determinações.

O estresse oxidativo foi avaliado em seis artigos eleitos (ARÇARI et al., 2011; BALSAN et al., 2019; BECKER et al., 2019; BOAVENTURA et al., 2012, 2015; MATSUMOTO et al., 2009) e observou-se que o consumo de CM diminuiu a oxidação de lipídeos e modulou os sistemas antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos. Os compostos

fenólicos, componentes bioativos do CM, possuem propriedades antioxidantes como quelantes de metais e captadores de ERO, atuando principalmente na hidroxila, peroxila, ânions superóxidos e peroxinitritos, portanto, diminuem ou inibem o processo de peroxidação lipídica (BECKER et al., 2019). Além disso, os ácidos fenólicos atuam como indutores da expressão gênica de enzimas antioxidantes (MATSUMOTO et al., 2009).

Em apenas uma pesquisa (CONFORTI; GALLO; SARAVÍ, 2012) determinou-se a densidade mineral óssea e a concentração de cálcio, obtendo como resultado a redução de lesão óssea devido ao consumo diário de CM. Esses dados sugerem que o mate pode ter efeito protetor na massa óssea.

**Tabela 2.** Características dos estudos incluídos na Revisão Sistemática, relativas ao efeito do chá mate em ratos

(continua)

Autor/ano	Tipo de Estudo	Pontos Escala de Jasad	Nível de evidência/ grau de recomendação	População (idade)	Tamanho Amostral (n)	Intervenção ou Dieta	Duração	Resultados
<b>Pang et al., 2008</b>	Experimental	0	4/C	Ratos Sprague – Dawley (1 mês)	24	Dieta rica em gordura (DRG) e Extrato de <i>Ilex paraguariensis</i> (IP)	8 semanas	<p><b>DRG</b></p> <p>↑Ingestão alimentar ↑Peso final ↑% Ganho de peso ↑Triglicerídeos ↑Colesterol total ↑Leptina</p> <p><b>DRG + IP</b></p> <p>↓Ingestão alimentar ↓Peso final ↓% Ganho de peso ↓Triglicerídeos ↓Colesterol total ↓Leptina</p>
<b>Arçari et al., 2009</b>	Experimental Randomizado	0	2B/B	Ratos Swiss (1 mês)	30	Dieta rica em gordura (DRG) e Erva-mate (EM) (1,0 g/Kg)	8 semanas	<p><b>Caracterização do chá</b></p> <p>Polifenóis totais: 348,80 ± 16,35 mg/g</p> <p><b>DRG</b></p> <p>↑Peso final ↑Colesterol total ↑Triglicerídeos ↑Leptina ↓Adiponectina</p> <p><b>DRG + EM</b></p> <p>↓Peso final ↓Colesterol total ↓Triglicerídeos ↓Leptina ↑Adiponectina</p>
<b>Shen et al., 2010</b>	Experimental Randomizado	0	2B/B	Ratas CD (3 meses)	40	Lipopolissacarídeos (LPS) e Chá verde (CV)	12 semanas	<p><b>CV (0,5%)</b></p> <p>↑DMO – fêmur ↑OCN ↓TRAP</p> <p><b>LPS</b></p> <p>↓DMO – fêmur ↓OCN ↑TRAP</p> <p><b>LPS + CV (0,5%)</b></p> <p>↑DMO – fêmur ↑OCN ↓TRAP</p>



**Tabela 2.** Características dos estudos incluídos na Revisão Sistemática, relativas ao efeito do chá mate em ratos

(continuação)

Autor/ano	Tipo de Estudo	Pontos Escala de Jadad	Nível de evidência/ grau de recomendação	População (idade)	Tamanho Amostral (n)	Intervenção ou Dieta	Duração	Resultados		
<b>Hussein et al., 2011</b>	Experimental	0	4/C	Ratos Obesos (2 meses)	30	Extrato aquoso de chá mate (100 mg/Kg/dia)	7 semanas	<b>Caracterização do chá</b> Polifenóis totais: 41,3%	<b>Obesos</b> ↑Ingestão alimentar ↑Peso final ↑% Ganho de peso ↑Triglicerídeos ↑Colesterol total ↓Adiponectina	<b>Obesos + Mate</b> ↓Ingestão alimentar ↓Peso final ↓% Ganho de peso ↓Triglicerídeos ↓Colesterol total ↑Adiponectina
								<b>SHAM</b> ↑OCN ↓TRAP ↓GPx	<b>SHAM + CV</b> ↑OCN ↑DMO – fêmur ↑GPx	<b>ORX</b> ↑OCN ↓TRAP ↓DMO – fêmur ↓GPx
<b>Shen et al., 2011</b>	Experimental Randomizado	0	2B/B	Ratos F344 (15 meses)	50	Orquidectomia (ORX) e Chá verde (CV) (0,5% p/v)	16 semanas	<b>DRG</b> ↑Ingestão alimentar e água ↑Peso final ↑Colesterol total ↑Triglicerídeos ↑Leptina	<b>DRG + EM (0,5 ou 1 ou 2 g)</b> ↓Ingestão alimentar e água ↓Peso final ↓Colesterol total ↓Triglicerídeos ↓Leptina	
<b>Kang et al., 2012</b>	Experimental Randomizado	0	2B/B	Ratos C57BL/6J (1 mês)	50	Dieta rica em gordura (DRG) e Erva-mate (EM) (0,5; 1 ou 2g/Kg erva/Kg)	4 semanas			

**Tabela 2.** Características dos estudos incluídos na Revisão Sistemática, relativas ao efeito do chá mate em ratos

(continuação)

Autor/ano	Tipo de Estudo	Pontos Escala de Jadad	Nível de evidência/ grau de recomendação	População	Tamanho Amostral	Intervenção ou Dieta	Duração	Resultados
<b>Shen et al., 2012</b>	Experimental Randomizado	0	2B/B	Ratas Sprague-Dawley (3 meses)	36	Dieta com baixo teor de gordura (DBG), Dieta rica em gordura (DRG) e Chá verde (CV) (0,5% p/v)	18 semanas	<b>DBG</b> ↓Peso corporal ↑GPx ↓Leptina ↑Adiponectina ↓DMO – fêmur  <b>DRG</b> ↑Peso corporal ↓GPx ↑Leptina ↓Adiponectina  <b>DRG + CV</b> ↓Peso corporal ↑GPx ↓Leptina ↓Adiponectina ↑DMO – fêmur
<b>Gao et al., 2013</b>	Experimental Randomizado	0	2B/B	Hamsters (2 meses)	50	Dieta rica em gordura (DRG) e Erva-mate comercial	8 semanas	<b>Caracterização do chá</b> Polifenóis totais: 340 mg/g  <b>DRG</b> ↑ Peso final ↑% Ganho de peso ↑Triglicerídeos ↑Colesterol total ↓SOD ↑MDA  <b>DRG + 1% ou 2% ou 4% Mate</b> ↓Peso final ↓% Ganho de peso ↓Triglicerídeos ↓Colesterol total ↑SOD ↓MDA
<b>Pimentel et al., 2013</b>	Experimental Randomizado	0	2B/B	Ratos Wistar (2 meses)	29	Dieta rica em gordura (DRG) e Extrato de Erva-mate (EM) (0,02 g de extrato/dia)	8 semanas	<b>EM</b> ↑Adiponectina  <b>DRG</b> ↑Ingestão calórica ↑Leptina ↓Adiponectina  <b>DRG + EM</b> ↑Ingestão calórica ↑Leptina ↑Adiponectina
<b>Bravo et al., 2014</b>	Experimental Randomizado	0	2B/B	Ratos Wistar (2 meses)	24	Dieta Hipercolesterolêmica (DHC) e Chá mate (CM)	3 semanas	<b>Caracterização do chá</b> Polifenóis totais: 8 g/100 g matéria seca  <b>CM</b> ↓Ingestão líquido ↓MDA  <b>DHC</b> ↑Triglicerídeos ↑Colesterol total ↓ FRAP ↑MDA  <b>DHC + CM</b> ↓Ingestão líquido ↓Triglicerídeos ↓Colesterol total ↓MDA

**Tabela 2.** Características dos estudos incluídos na Revisão Sistemática, relativas ao efeito do chá mate em ratos

(continuação)

Autor/ano	Tipo de Estudo	Pontos Escala de Jadad	Nível de evidência/ grau de recomendação	População (idade)	Tamanho Amostral (n)	Intervenção ou Dieta	Duração	Resultados
								<b>Caracterização do chá</b> <b>DRG</b> ↑% Ganho de peso ↑Colesterol total ↑Triglicerídeos <b>EM</b> ↓% Ganho de peso ↓Colesterol total ↓Triglicerídeos <b>DRG + EM</b> ↓% Ganho de peso ↓Ingestão alimentar ↓Colesterol total ↓Triglicerídeos
<b>Fujii et al., 2014</b>	Experimental Randomizado	0	2B/B	Ratos Wistar (2 meses)	48	Dieta rica em gordura (DRG) e Erva-mate (EM) (1g/Kg)	4 semanas	Polifenóis totais: 14,9 mg/g
								<b>0,2 g Ca</b> ↓DMO – tíbia ↓% Volume ósseo – tíbia <b>CM + 0,2 g Ca</b> ↑DMO – tíbia ↑% Volume ósseo – tíbia
<b>Brun et al., 2015</b>	Experimental Randomizado	0	2B/B	Ratos Sprague-Dawley (1 mês)	24	Chá mate (CM) (2 mg/100g m.c./dia)	4 semanas	
								<b>Caracterização do chá</b> <b>CV</b> ↓% Ganho de peso ↓Leptina ↓Adiponectina ↑SOD ↓GPx ↓ERO <b>Obeso</b> ↑% Ganho de peso ↑Leptina ↑Adiponectina ↓SOD ↓GPx ↑ERO <b>Obeso + CV</b> ↓% Ganho de peso ↑Leptina ↑Adiponectina ↑SOD ↑GPx ↓ERO
<b>Molina; Bolin; Otton, 2015</b>	Experimental	0	4/C	Ratos Wistar adultos	40	Dieta de cafeteria (DC) e Chá verde (CV) (500 mg/Kg)	12 semanas	Polifenóis totais: 392 µg/mg de extrato do chá
								<b>DRG</b> ↑Peso corporal ↓DMO – fêmur ↑Leptina ↓Adiponectina <b>DRG + CV</b> ↓Peso corporal ↑DMO – fêmur ↓Leptina <b>RC</b> ↓Peso corporal ↓DMO – fêmur ↓Leptina ↑Adiponectina <b>RC + CV</b> ↓Peso corporal ↑DMO – fêmur ↓Leptina
<b>Shen et al., 2015</b>	Experimental Randomizado	0	2B/B	Ratas Sprague-Dawley (3 meses)	48	Dieta rica em gordura (DRG), Restrição calórica (RC) e Chá verde (CV) (0,5% p/v)	18 semanas	

**Tabela 2.** Características dos estudos incluídos na Revisão Sistemática, relativas ao efeito do chá mate em ratos

(continuação)

Autor/ano	Tipo de Estudo	Pontos Escala de Jadad	Nível de evidência/ grau de recomendação	População (idade)	Tamanho Amostral (n)	Intervenção ou Dieta	Duração	Resultados
<b>Rocha et al., 2016</b>	Experimental	0	4/C	Ratos Wistar (2 meses)		Dieta de cafeteria (DC) e Chá verde (CV) (500 mg/Kg)	12 semanas	<p><b>Caracterização do chá</b></p> <p>Polifenóis totais: 392 µg/mg de extrato de chá</p> <p><b>CV</b></p> <p>↓% Ganho de peso ↑Adiponectina ↓Leptina</p> <p><b>Obeso</b></p> <p>↑% Ganho de peso ↓Adiponectina ↑Leptina ↑Colesterol total</p> <p><b>Obeso + CV</b></p> <p>↓% Ganho de peso ↑Adiponectina ↓Colesterol total</p>
<b>Brasilino et al., 2017</b>	Experimental Randomizado	0	2B/B	Ratos Wistar (3 meses)	16	Extração do incisivo superior direito e Chá mate solúvel (CM) (20 mg/Kg m.c./dia)	8 semanas	<p><b>CM</b></p> <p>↑% Área óssea ↑FA ↑TRAP ↑FRAP ↑MDA ↑SOD ↑OCN ↑OPG ↑RANKL</p>
<b>Choi et al., 2017</b>	Experimental Randomizado	0	2B/B	Camundongos C57BL/6J (1 mês)	20	Dieta rica em gordura (DRG) e Chá mate (CM) (400 mg/Kg m.c./dia)	16 semanas	<p><b>DRG</b></p> <p>↑Peso Final ↑% Ganho de peso ↑Leptina ↑Colesterol total ↑Triglicédeos</p> <p><b>DRG + CM</b></p> <p>↓Peso Final ↓% Ganho de peso ↓Leptina ↓Colesterol total ↓Triglicédeos</p>

**Tabela 2.** Características dos estudos incluídos na Revisão Sistemática, relativas ao efeito do chá mate em ratos

(continuação)

Autor/ano	Tipo de Estudo	Pontos Escala de Jadad	Nível de evidência/ grau de recomendação	População (idade)	Tamanho Amostral (n)	Intervenção ou Dieta	Duração	Resultados			
Conceição et al., 2017	Experimental Randomizado	1	2B/B	Ratos Wistar adultos	30	Chá mate (CM) (1 g/Kg m. c./dia)	4 semanas	Caracterização do chá	Grupo Superalimentação precoce	Grupo Superalimentação precoce + CM	
								Polifenóis totais = 8.35 ± 0.5 g/L	↑Ingestão alimentar ↑Peso final ↑Triglicerídeos ↓SOD ↓GPx ↓CAT ↑MDA	↓Ingestão alimentar ↓Peso final ↓Triglicerídeos ↑SOD ↑GPx ↑CAT ↓MDA	
Pereira et al., 2017 (a)	Experimental Randomizado	0	2B/B	Ratas Wistar (4 e 16 meses)	30	Perimenopausa (PERI) e Chá mate solúvel (CM) (20 mg/Kg m.c./dia)	8 semanas	Caracterização do chá	Adulto	PERI	PERI + CM
								Polifenóis totais: 113,37±0,34 mg/g	↓MDA ↓FRAP ↑SOD ↑GPx ↑CAT	↑MDA ↓FRAP ↓SOD ↓GPx ↓CAT	↓MDA ↑FRAP ↑SOD ↑GPx ↓CAT
Pereira et al., 2017 (b)	Experimental Randomizado	0	2B/B	Ratas Wistar (4 e 16 meses)	30	Perimenopausa (PERI) e Chá mate solúvel (CM) (20 mg/Kg m.c./dia)	4 semanas	Adulto	PERI	PERI + CM	
								↑DMOa – fêmur ↓TRAP ↓FA ↓RANKL ↑OPG ↓SOD ↓MDA - osso	↓DMOa – fêmur ↑TRAP ↑FA ↑RANKL ↓OPG ↑SOD ↑MDA - osso	↑DMOa – fêmur ↓TRAP ↓FA ↓RANKL ↑OPG ↓SOD ↓MDA - osso	

**Tabela 2.** Características dos estudos incluídos na Revisão Sistemática, relativas ao efeito do chá mate em ratos

(conclusão)

Autor/ano	Tipo de Estudo	Pontos Escala de Jadad	Nível de evidência/ grau de recomendação	População	Tamanho Amostral	Intervenção ou Dieta	Duração	Resultados		
<b>Barroso et al., 2019</b>	Experimental	0	4/C	Ratos C57BL/6 (1 mês)	32	Dieta rica em gordura (DRG) e Chá mate (500 mg/kg)	13 semanas	<b>DRG</b> ↑% Ganho de peso ↓Consumo de água ↑MDA ↑ Colesterol total ↑Triglicerídeos	<b>DRG + Mate</b> ↓% Ganho de peso ↑Consumo de água ↓MDA	<b>DRG + Fenofibrato</b> ↓% Ganho de peso ↑Consumo de água ↓MDA ↓ Colesterol total ↓Triglicerídeos
<b>Yıldırım et al., 2020</b>	Experimental	0	4/C	Ratas Sprague-Dawley (4 meses)	32	Ovariectomia (OVX) e Chá branco (CB) (0,5% p/v)	12 semanas	<b>OVX</b> ↓Ca ↑TRAP ↑CTX ↓DMO – fêmur	<b>CB</b> ↑Ca ↓TRAP ↓CTX	<b>OVX + CB</b> ↓Ca ↓TRAP ↓CTX

Fonte: Elaborado pelo autor

\*DMO = Densidade Mineral Óssea, FA = Fosfatase Alcalina, Ca = Cálcio, OCN = Osteocalcina, OPG = Osteoprotegerina, TRAP = Fosfatase Ácida Resistente ao Tartarato, RANKL = Ligante do Receptor Ativador do Fator Nuclear Kappa  $\beta$ , CTX = Telopectídeo C-terminal, GPx = Glutathione Peroxidase, SOD = Superóxido Dismutase, CAT = Catalase e MDA = Malonaldeído, TBARS = *Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico*, ERO = Espécies Reativas de Oxigênio e FRAP = *Ferric Reducing Antioxidant Power*.

**Tabela 3.** Características dos estudos incluídos na Revisão Sistemática, relativas ao efeito do chá mate em humanos

(continua)

Autor/ano	Tipo de Estudo	Pontos Escala de Jadad	Nível de evidência/ grau de recomendação	População (média de idade)	Tamanho Amostral (n)	Intervenção ou Dieta	Duração	Resultados
								<b>Caracterização do chá</b> <b>T0 (0-7 dias)</b> <b>T1 (1-7 dias)</b> <b>T2 (8-15 dias)</b>
<b>Matsumoto et al., 2009</b>	Ensaio Clínico	0	3B/B	Mulheres saudáveis (25±3 anos)	15	Chá mate	2 semanas	Polifenóis totais: 350 mg/g ↑TBARS ↓TAS ↓SOD ↓GPx ↓CAT ↓TBARS ↓TAS ↑SOD ↑GPx ↑CAT ↓TBARS ↑TAS ↑SOD ↑GPx ↑CAT
<b>Arçari et al., 2011</b>	Ensaio Clínico	0	3B/B	Homens e mulheres (18 a 30 anos de idade)	60 (42 normolipídicos – NL) e 18 hiperlipídicos - HL)	Chá mate comercial (CM) (12,5 mg/ml/dia)	8 semanas	<b>NL + CM</b> <b>HL + CM</b> ↓TBARS ↑TAS ↑SOD ↓TBARS ↑TAS ↑SOD
<b>Boaventura et al., 2012</b>	Ensaio Clínico Randomizado	0	2B/B	Homens e Mulheres dislipidêmicos (≤18 anos)	74	Chá mate comercial (CM) (20 mg/mL)	12 semanas	<b>CM</b> <b>Intervenção dietética</b> <b>CM + Intervenção dietética</b> ↑FRAP ↓FRAP ↑FRAP
<b>Conforti et al., 2012</b>	Observacional Transversal	0	4/C	Mulheres pós-menopausadas (≥60 anos)	292	Erva-mate (EM)	5 anos	<b>EM</b> ↑IMC ↑ Ingestão de Ca ↑ DMO – fêmur e espinha lombar

**Tabela 3.** Características dos estudos incluídos na Revisão Sistemática, relativas ao efeito do chá mate em humanos

(conclusão)

Autor/ano	Tipo de Estudo	Pontos Escala de Jadad	Nível de evidência/ grau de recomendação	População (média de idade)	Tamanho Amostral (n)	Intervenção ou Dieta	Duração	Resultados		
Boaventura et al., 2015	Ensaio Clínico Randomizado	2	2B/B	Homens e mulheres saudáveis (20 a 44 anos)	36	Erva-mate tradicional (MT) e Erva-mate concentrada congelada (MC)	2 semanas	<b>Caracterização do chá</b>		
								Polifenóis totais: MT = 536,00 ± 1,16 mg e MC = 2069,11 ± 20,91 mg		
Balsan et al., 2019	Ensaio Clínico Randomizado	2	2B/B	Homens e Mulheres (35 a 60 anos)	142	Chá verde (1 g de chá + 200 mL de água) e Erva-mate (87,5 g de mate + 500 mL de água)	4 semanas	<b>MT</b>		
								↓FRAP ↑Glutaciona reduzida ↓CAT ↓SOD	<b>MC</b>	
Becker et al., 2019	Ensaio Clínico	0	3B/B	Homens e mulheres saudáveis	14	Cápsulas de extrato seco de Erva-mate (EM) (250 mg/Kg)	8 semanas	<b>Controle</b>		
								↓Colesterol total ↓Triglicerídeos ↓PON-1 ↓Leptina	<b>Chá verde</b>	<b>Erva-mate</b>
Becker et al., 2019	Ensaio Clínico	0	3B/B	Homens e mulheres saudáveis	14	Cápsulas de extrato seco de Erva-mate (EM) (250 mg/Kg)	8 semanas	<b>Caracterização do chá</b>		
								Polifenóis totais = 123,52 ± 7,87 mg/g	<b>EM (7 dias)</b>	<b>EM (30 dias)</b>
								↑FRAP ↑ Glutaciona reduzida ↓GPx ↑SOD ↑CAT ↑PON1 ↑LOOH ↓TBARS	↑FRAP ↓ Glutaciona reduzida ↓GPx ↑SOD ↑CAT ↑PON1 ↓LOOH ↓TBARS	↓FRAP ↑Glutaciona reduzida ↑GPx ↑SOD ↓CAT ↑PON1 ↓LOOH ↓TBARS

Fonte: Elaborado pelo autor

\*IMC = Índice de Massa Corpórea, DMO = Densidade Mineral Óssea, Ca = Cálcio, GPx = Glutaciona Peroxidase, SOD = Superóxido Dismutase, CAT = Catalase, MDA = Malonaldeído, TBARS = Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico, FRAP = Ferric Reducing Antioxidant Power e TAS = Total Antioxidant Status, PON1 = Paraoxonase-1 e LOOH = Hidroperóxidos Lipídicos.



## 1.4 Objetivo

Com base nas evidências obtidas nesta revisão sistemática de literatura de que a obesidade é um doença crônica de elevada incidência mundial que afeta humanos e animais, cujas alterações se reproduzem adequadamente em ratos após consumo de alimentos altamente energéticos; o CM contribui para minimizar os efeitos indesejáveis do excesso de gordura e que, além disso, há indícios de que uma parcela da população humana e animal são intolerantes à cafeína presente no CM, propomos investigar a hipótese de que o CM descafeinado mantém as propriedades antioxidantes, prevenção da obesidade e lesões ósseas da forma *in natura*.

## REFERÊNCIAS

ALKHEDAIDE, A. et al. Chronic effects of soft drink consumption on the health state of Wistar rats: A biochemical, genetic and histopathological study. *Molecular Medicine Reports*, v. 13, n. 6, p. 5109–5117, 2016.

ANDERSEN, T.; FOGH, J. Weight loss and delayed gastric emptying following a South American herbal preparation in overweight patients. *J Hum Nutr Diet*, v. 14, n. 3, p. 243–250, 2001.

APOVIAN, C. Sugar-sweetened soft drinks, obesity, and type 2 diabetes. *JAMA*, v. 292, n. 8, p. 978–9, 2004.

ARÇARI, D. P. et al. Antiobesity effects of yerba maté extract (*Ilex paraguariensis*) in high-fat diet-induced obese mice. *Obesity (Silver Spring)*, v. 17, n. 12, p. 2127–2133, 2009.

ARÇARI, D. P. et al. Anti-inflammatory effects of yerba maté extract (*Ilex paraguariensis*) ameliorate insulin resistance in mice with high fat diet-induced obesity. *Mol Cell Endocrinol*, v. 335, n. 2, p. 110–115, 2011.

ARÇARI, D. P. et al. The *in vitro* and *in vivo* effects of yerba mate (*Ilex paraguariensis*) extract on adipogenesis. *Food Chem*, v. 141, n. 2, p. 809–815, 2013.

ATHESH, K.; JOTHI, G. Pharmacological screening of anti-obesity potential of acorus calamus linn. In high fat cafeteria diet fed obese rats. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, v. 10, n. 4, p. 384–390, 2017.

BALSAN, G. et al. Effect of yerba mate and green tea on paraoxonase and leptin levels in patients affected by overweight or obesity and dyslipidemia: A randomized clinical trial. *Nutrition Journal*, v. 18, n. 1, p. 1–10, 2019.

BARROSO, M. V. et al. Mate tea reduces high fat diet-induced liver and metabolic disorders in mice. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, v. 109, n. August 2018, p. 1547–1555, 2019.

BASU, S. et al. Relationship of soft drink consumption to global overweight, obesity, and diabetes: A cross-national analysis of 75 countries. *American Journal of Public Health*, 2013.

BECKER, A. M. et al. Spray-Dried Yerba Mate Extract Capsules: Clinical Evaluation and Antioxidant Potential in Healthy Individuals. *Plant Foods for Human Nutrition*, v. 74, n. 4, p. 495–500, 2019.

BENZIE, I. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Anal Biochem*, v. 239, n. 1, p. 70–76, 1996.

BERNARDI, M. M.; SPINOSA, H. S.; RICCI, E. L. A eficácia e segurança do insumo fitoterápico Pholia Negra. *Revista RX*, v. 3, n. 13, 2011.

BERNARDIS, L. L.; PATTERSON, B. D. 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. 527–528, 1968.

BOAVENTURA, B. C. B. et al. Association of mate tea (*Ilex paraguariensis*) intake and dietary intervention and effects on oxidative stress biomarkers of dyslipidemic subjects. *Nutrition*, v. 28, n. 6, p. 657–664, 2012.

BOAVENTURA, B. C. B. et al. Effect of yerba mate (*Ilex paraguariensis* A. St. Hil.) infusion obtained by freeze concentration technology on antioxidant status of healthy individuals. *LWT - Food Science and Technology*, v. 62, n. 2, p. 948–954, 2015.

BORGES, M. C. et al. The effect of mate tea (*Ilex paraguariensis*) on metabolic and inflammatory parameters in high-fat diet-fed Wistar rats. *Int J Food Sci Nutr*, v. 64, n. 5, p. 561–569, 2013.

BORTOLI, P. M. et al. *Ilex paraguariensis*: Potential antioxidant on aluminium toxicity, in an experimental model of Alzheimer's disease. *J Inorg Biochem*, 2017.

BRACESCO, N. et al. Recent advances on *Ilex paraguariensis* research: minireview. *J Ethnopharmacol*, v. 136, n. 3, p. 378–384, 2011.

BRASILINO, M. D. S. et al. Mate tea (*Ilex paraguariensis*) improves bone formation in the alveolar socket healing after tooth extraction in rats. *Clin Oral Investig*, 2017.

BRAVO, L. et al. Hypocholesterolaemic and antioxidant effects of yerba mate (*Ilex paraguariensis*) in high-cholesterol fed rats. *Fitoterapia*, v. 92, p. 219–229, 2014.

BRUN, L. R. et al. Effects of Yerba Mate (*Ilex paraguariensis*) on Histomorphometry, Biomechanics, and Densitometry on Bones in the Rat. *Calcified Tissue International*, v. 97, n. 5, p. 527–534, 2015a.

BRUN, L. R. et al. Effects of Yerba Mate (*Ilex paraguariensis*) on Histomorphometry, Biomechanics, and Densitometry on Bones in the Rat. *Calcif Tissue Int*, v. 97, n. 5, p. 527–534, 2015b.

BUEGE, J. A.; AUST, S. D. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol*, v. 52, p. 302–310, 1978.

BUROKAS, A. et al. Extinction and reinstatement of an operant responding maintained by food in different models of obesity. *Addict Biol*, 2017.

BUYUKDERE, Y.; GULEC, A.; AKYOL, A. Cafeteria diet increased adiposity in comparison to high fat diet in young male rats. *PeerJ*, v. 2019, n. 4, 2019.

CALLAWAY, D. A.; JIANG, J. X. Reactive oxygen species and oxidative stress in osteoclastogenesis, skeletal aging and bone diseases. *Journal of bone and mineral metabolism*, v. 33, n. 4, p. 359–70, 23 jul. 2015.

CAO, J. J. Effects of obesity on bone metabolism. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research*, v. 6, n. 30, 2011.

CARILLON, J. et al. Cafeteria diet induces obesity and insulin resistance associated with oxidative stress but not with inflammation: improvement by dietary supplementation with a melon superoxide dismutase. *Free Radical Biology and Medicine*, v. 65, p. 254–261, 2013.

CARMO, L. S. et al. The Effects of Yerba Maté (*Ilex Paraguariensis*) consumption on IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  and IL-10 production by bone marrow cells in wistar rats fed a high-fat diet. *Int J Vitam Nutr Res*, v. 83, n. 1, p. 26–35, 2013.

CAVAGNI, J. et al. Obesity and Hyperlipidemia Modulate Alveolar Bone Loss in Wistar Rats. *Journal of Periodontology*, v. 87, n. 2, p. e9–e17, 2016.

CHEKKAL, H. et al. Cactus young cladodes improves unbalanced glycemic control, dyslipidemia, prooxidant/antioxidant stress biomarkers and stimulate lecithin-cholesterol acyltransferase and paraoxonase activities in young rats after cafeteria diet exposure. *Nutrition and Food Science*, v. 50, n. 2, p. 288–302, 2019.

CHOI, M. S. et al. Long-Term Dietary Supplementation with Yerba Mate Ameliorates Diet-Induced Obesity and Metabolic Disorders in Mice by Regulating Energy Expenditure and Lipid Metabolism. *Journal of Medicinal Food*, v. 20, n. 12, p. 1168–1175, 2017.

CONCEIÇÃO, E. P. S. et al. Effects of *Ilex paraguariensis* (yerba mate) on the hypothalamic signalling of insulin and leptin and liver dysfunction in adult rats overfed during lactation. *Journal of Developmental Origins of Health and Disease*, v. 8, n. 01, p. 123–132, 9 fev. 2017.

CONFORTI, A. S.; GALLO, M. E.; SARAVÍ, F. D. Yerba Mate (*Ilex paraguariensis*) consumption is associated with higher bone mineral density in postmenopausal women. *Bone*, v. 50, n. 1, p. 9–13, 2012.

DA VEIGA, D. T. A. et al. The yerba mate intake has a neutral effect on bone: A case-control study in postmenopausal women. *Phytother Res*, v. 32, n. 1, p. 58–64, 2018.

DE MENESES FUJII, T. M. et al. Yerba mate (*Ilex paraguariensis*) modulates NF-kappaB pathway and AKT expression in the liver of rats fed on a high-fat diet. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, v. 65, n. 8, p. 967–976, 2014.

DE MORAIS, E. C. et al. Consumption of yerba mate (*ilexparaguariensis*) improves serum lipid parameters in healthy dyslipidemic subjects and provides an additional LDL-cholesterol reduction in individuals on statin therapy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 57, n. 18, p. 8316–8324, 23 set. 2009.

DE OLIVEIRA, D. M. et al. Bioavailability of chlorogenic acids in rats after acute ingestion of maté tea (*Ilex paraguariensis*) or 5-caffeoylquinic acid. *European journal of nutrition*, v. 56, n. 8, p. 2541–2556, 1 dez. 2017.

DIMITRI, P. et al. Obesity is a risk factor for fracture in children but is protective against fracture in adults: A paradox. *Bone*, v. 50, n. 2, p. 457–466, 2012.

E CASSEL, RMF VARGAS, GW BRUN, DE ALMEIDA, L COGOI, G FERRARO, R. F. Supercritical fluid extraction of alkaloids from *Ilex paraguariensis* St. Hil. *Journal of Food Engineering*, v. 100, n. 4, p. 656–661, 2010.

EL-TERRAS, A. et al. Carbonated soft drinks induce oxidative stress and alter the expression of certain genes in the brains of Wistar rats. *Molecular Medicine Reports*, v. 13, n. 4, p. 3147–3154, 2016.

FARAG A.I.; AHMAD M. M.; GAMAL H. H. Effect of carbonated soft drinks consumption on the bone of Wistar albino rat: A histomorphometric study. *Journal of American Science*, v. 12, n. 8, 2016.

FEIJÓ, G. DOS S. et al. Food Selection of Cafeteria Diet Affects Memory Dysfunction Related to Obesity. *Neurochemical Research*, v. 44, n. 8, p. 1869–1877, 2019.

FERNÁNDEZ-SÁNCHEZ, A. et al. Inflammation, oxidative stress, and obesity. *Int J Mol Sci*, v. 12, n. 5, p. 3117–3132, 2011.

FERRETTI, F.; MARIANI, M. Sugar-sweetened beverage affordability and the prevalence of overweight and obesity in a cross section of countries. *Globalization and Health*, v. 15, n. 1, p. 1–14, 2019.

FLOHÉ, L.; GÜNZLER, W. A. Assays of glutathione peroxidase. *Methods Enzymol*, v. 105, p. 114–121, 1984.

GAMBERO, A.; RIBEIRO, M. L. The positive effects of yerba mate (*Ilex paraguariensis*) in obesity. *Nutrients*, v. 7, n. 2, p. 730–50, 2015.

GAMBOA-GÓMEZ, C. I. et al. EXCLI-14-809.pdf. p. 809–831, 2015.

GAO H, LIU Z, QU X, Z. Y. et al. Effects of Yerba Mate tea (*Ilex paraguariensis*) on vascular endothelial function and liver lipoprotein receptor gene expression in hyperlipidemic rats. *Fitoterapia*, v. 84, n. 1, p. 264–272, 2013.

GARCÍA-CONTRERAS, F. et al. Cola beverage consumption induces bone mineralization reduction in ovariectomized rats. *Archives of Medical Research*, v. 31, n. 4, p. 360–365, 2000.

GORYAKIN, Y.; MONSIVAIS, P.; SUHRCKE, M. Soft drink prices, sales, body mass index and diabetes: Evidence from a panel of low-, middle- and high-income countries. *Food Policy*, v. 73, p. 88–94, 2017.

GREENWOOD, D. C. et al. Association between sugar-sweetened and artificially sweetened soft drinks and type 2 diabetes: Systematic review and dose-response meta-analysis of prospective studies. *British Journal of Nutrition*, 2014.

HECK, C. I.; DE MEJIA, E. G. Yerba mate tea (*Ilex paraguariensis*): A comprehensive review on chemistry, health implications, and technological considerations *Journal of Food Science*, 2007.

HUSSEIN, G. M. et al. Mate tea (*Ilex paraguariensis*) promotes satiety and body weight lowering in mice: involvement of glucagon-like peptide-1. *Biol Pharm Bull*, v. 34, n. 12, p. 1849–1855, 2011a.

HUSSEIN, G. M. E. et al. Protective and ameliorative effects of maté (*Ilex paraguariensis*) on metabolic syndrome in TSOD mice. *Phytomedicine*, v. 19, n. 1, p. 88–97, 2011b.

IMESSAOUDENE, A. et al. Beneficial effects of quercetin-iron complexes on serum and tissue lipids and redox status in obese rats. *Journal of Nutritional Biochemistry*, v. 29, p. 107–115, 2016.

ISHIOKA, K. et al. Experimental and clinical studies on plasma leptin in obese dogs. *Journal of Veterinary Medical Science*, v. 64, n. 4, p. 349–53, 2002.

IZADI, V.; FARABAD, E.; AZADBAKHT, L. Epidemiologic evidence on serum adiponectin level and lipid profile *International Journal of Preventive Medicine*, 2013.

JADAD, A. R. et al. Assessing the quality of reports of randomized clinical trials: Is blinding necessary? *Controlled Clinical Trials*, v. 17, n. 1, p. 1–12, 1996.

JIANG, Y. et al. Resveratrol promotes osteogenesis via activating SIRT1/FoxO1 pathway in osteoporosis mice. *Life Sciences*, v. 246, n. 14, p. 117422, 2020.

JOO, H. et al. Anti-obesity effects of hot water extract and high hydrostatic pressure extract of garlic in rats fed a high-fat diet. *Food Chem Toxicol*, v. 55, p. 100–5, 2013.

KANG, Y. R. et al. Anti-obesity and anti-diabetic effects of Yerba Mate (*Ilex paraguariensis*) in C57BL/6J mice fed a high-fat diet. *Lab Anim Res*, v. 28, n. 1, p. 23–29, 2012.

KUO, T. R.; CHEN, C. H. Bone biomarker for the clinical assessment of osteoporosis: Recent developments and future perspectives. *Biomarker Research*, v. 5, n. 1, p. 5–13, 2017.

KWAK, S. C. et al. Chlorogenic acid inhibits osteoclast differentiation and bone resorption by down-regulation of receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand-induced nuclear factor of activated T cells c1 expression. *Biol Pharm Bull*, v. 36, n. 11, p. 1779–1786, 2013.

LASKER, S. et al. High-fat diet-induced metabolic syndrome and oxidative stress in obese rats are ameliorated by yogurt supplementation. *Scientific Reports*, v. 9, n. 1, p. 1–15, 2019.

LAVET, C. et al. Fat and Sucrose Intake Induces Obesity-Related Bone Metabolism Disturbances: Kinetic and Reversibility Studies in Growing and Adult Rats. *Journal of Bone and Mineral Research*, v. 31, n. 1, p. 98–115, 2016.

LEBDA, M. A.; TOHAMY, H. G.; EL-SAYED, Y. S. Long-term soft drink and aspartame intake induces hepatic damage via dysregulation of adipocytokines and alteration of the lipid profile and antioxidant status. *Nutrition Research*, v. 41, p. 47–55, 2017.

LECKA-CZERNIK, B. et al. 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. *Mol Cell Endocrinol*, v. 410, p. 35–41, 2015.

LIMA, N. D. S. et al. *Ilex paraguariensis* (yerba mate) improves endocrine and metabolic disorders in obese rats primed by early weaning. *European Journal of Nutrition*, v. 53, n. 1, p. 73–82, fev. 2014.

LIU H, YAO W, ZHANG W, ZHOU J, WU T, H. C. Coffee consumption and risk of fractures: a meta-analysis. *Archives of Medical Science*, v. 8, n. 5, p. 776–783, 2012.

LIU, Q.; CAO, J.; KONG, J. J. Effects of percutaneous kyphoplasty on bone metabolism and oxidative stress in elderly patients with osteoporotic spinal fractures. *Journal of the College of Physicians and Surgeons Pakistan*, v. 29, n. 1, p. 37–40, 2019.



LIU, R. H. et al. Effects of the combined extracts of *Herba Epimedii* and *Fructus Ligustri Lucidi* on bone mineral content and bone turnover in osteoporotic rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, v. 15, n. 1, p. 1–8, 2015.

LÓPEZ-JARAMILLO, P. et al. The role of leptin/adiponectin ratio in metabolic syndrome and diabetes. *Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation*, v. 18, n. 1, p. 37–45, 2014.

MACEDO, I. C. et al. Cafeteria diet-induced obesity plus chronic stress alter serum leptin levels. *Peptides*, v. 38, n. 1, p. 189–196, 2012.

MALONE, M.; TSAI, G. The evidence for herbal and botanical remedies, Part 1. *J Fam Pract*, v. 67, n. 1, p. 10–16, 2018.

MANGANÓ, K. M. et al. Dietary acid load is associated with lower bone mineral density in men with low intake of dietary calcium. *Journal of Bone and Mineral Research*, v. 29, n. 2, p. 500–506, 2014.

MARKLUND, S.; MARKLUND, G. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem*, v. 47, n. 3, p. 469–474, 1974.

MATSUMOTO, R. L. T. T. et al. Effects of mate tea (*Ilex paraguariensis*) ingestion on mRNA expression of antioxidant enzymes, lipid peroxidation, and total antioxidant status in healthy young women. *Journal of agricultural and food chemistry*, v. 57, n. 5, p. 1775–80, 11 mar. 2009.

MINEMATSU, A.; NISHII, Y.; SAKATA, S. High-fat/high-sucrose diet results in higher bone mass in aged rats. *Bone Reports*, v. 8, n. June 2017, p. 18–24, 2018.

MOHER, D. et al. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: The PRISMA statement. *PLoS Medicine*, v. 6, n. 7, 2009.

MOLINA, N.; BOLIN, A. P.; OTTON, R. Green tea polyphenols change the profile of inflammatory cytokine release from lymphocytes of obese and lean rats and protect against oxidative damage. *International Immunopharmacology*, v. 28, n. 2, p. 985–996, 2015.

NABAVI, S. F. et al. Role of quercetin as an alternative for obesity treatment: You are what you eat! *Food Chemistry*, v. 179, p. 305–10, 2015.

NAVARRO, M. E. L. et al. Renal inflammatory and oxidative and metabolic changes after 6 weeks of cafeteria diet in rats. *Jornal brasileiro de nefrologia : 'orgao oficial de Sociedades Brasileira e Latino-Americana de Nefrologia*, v. 38, n. 1, p. 9–14, 2016.

OGUR, R. et al. Evaluation of the effect of cola drinks on bone mineral density and associated factors. *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology*, v. 100, n. 5, p. 334–338, 2007.

OTERO-LOSADA, M. et al. Exercise ameliorates endocrine pancreas damage induced by chronic cola drinking in rats. *PLoS ONE*, v. 11, n. 5, p. 1–14, 2016.

PAGANINI STEIN, F. L. et al. Vascular responses to extractable fractions of *Ilex paraguariensis* in rats fed standard and high-cholesterol diets. *Biol Res Nurs*, v. 7, n. 2, p. 146–156, 2005.

PALDÁNIUS, P. M. et al. The effect of oral glucose tolerance test on serum osteocalcin and bone turnover markers in young adults. *Calcified Tissue International*, v. 90, n. 2, p. 90–5, 2012.

PANG J, CHOI Y, P. T. et al. *Ilex paraguariensis* extract ameliorates obesity induced by high-fat diet: Potential role of AMPK in the visceral adipose tissue. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, v. 476, n. 2008, p. 178–185, 2008.

PANG J, CHOI Y, P. T. *Ilex paraguariensis* extract ameliorates obesity induced by high-fat diet: Potential role of AMPK in the visceral adipose tissue. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, v. 476, n. 2008, p. 178–185, 2008.

PEREIRA, A. A. F. et al. *Ilex paraguariensis* supplementation may be an effective nutritional approach to modulate oxidative stress during perimenopause. *Exp Gerontol*, v. 90, p. 14–18, 1 abr. 2017a.

PEREIRA, C. S. et al. *Ilex Paraguariensis* Decreases Oxidative Stress in Bone and Mitigates the Damage in Rats During Perimenopause. *Experimental Gerontology*, v. 98, n. 2016, p. 148–152, 2017b.

PHILLIPS B, BALL C, SACKETT D, BADENOCH D, S. S.; HAYNES B, D. M. Evidence-based medicine levels of evidence. Oxford Centre for Evidence-Based Medicine, 2001.

PIMENTEL, G. D. et al. Yerba mate extract (*Ilex paraguariensis*) attenuates both central and peripheral inflammatory effects of diet-induced obesity in rats. *J Nutr Biochem*, v. 24, n. 5, p. 809–818, 2013.

QIN, D. et al. Anti-osteoporosis effects of osteoking via reducing reactive oxygen species. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 244, n. June, p. 112045, 2019.

RAPURI, P. B. et al. Caffeine intake increases the rate of bone loss in elderly women and interacts with vitamin D receptor genotypes. *American Journal of Clinical Nutrition*, v. 74, n. 5, p. 694–700, 2001.

RAZNY, U. et al. Relation of the protein glycation, oxidation and nitration to the osteocalcin level in obese subjects. *Acta Biochimica Polonica*, v. 64, n. 3, p. 415–422, 2017.

REID, I. R. Fat and bone. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, v. 503, n. 1, p. 20–27, 2010.

ROCHA, A. et al. Green tea extract activates AMPK and ameliorates white adipose tissue metabolic dysfunction induced by obesity. *European Journal of Nutrition*, v. 55, n. 7, p. 2231–2244, 2016.

RODRIGUES, L. et al. Effects of high fat diet on salivary alpha-amylase, serum parameters and food consumption in rats. *Archives of oral biology*, v. 60, n. 6, p. 854–62, 2015.

RYO, M. et al. Adiponectin as a biomarker of the metabolic syndrome. *Circulation Journal*, 2004.

SAGAE, S. C. et al. Metabolic dysfunction in a rat model of early-life scarcity–adversity: Modulatory role of cafeteria diet. *Experimental Physiology*, v. 103, n. 11, p. 1481–1493, 2018.

SAMPEY, B. P. et al. Cafeteria diet is a robust model of human metabolic syndrome with liver and adipose inflammation: Comparison to high-fat diet. *Obesity*, v. 19, n. 6, p. 1109–1117, 2011.

SCIALLA, J. J.; ANDERSON, C. A. M. Dietary Acid Load: A Novel Nutritional Target in Chronic Kidney Disease? *Advances in Chronic Kidney Disease*, v. 20, n. 2, p. 141–9, 2013.

SHEN, C. L. et al. Green tea polyphenols mitigate bone loss of female rats in a chronic inflammation-induced bone loss model. *Journal of Nutritional Biochemistry*, v. 21, n. 10, p. 968–974, 2010.

SHEN, C. L. et al. Green tea and bone health: Evidence from laboratory studies. *Pharmacol Res*, v. 64, n. 2, p. 155–161, 2011.

SHEN, C. L. et al. Green tea polyphenols benefits body composition and improves bone quality in long-term high-fat diet-induced obese rats. *Nutrition Research*, v. 32, n. 6, p. 448–457, 2012.

SHEN, C. L. et al. 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, n. 12, p. 1095–1105, 2015.

SONG, D. et al. Cistanche deserticola polysaccharide attenuates osteoclastogenesis and bone resorption via inhibiting RANKL signaling and reactive oxygen species production. *Journal of Cellular Physiology*, v. 233, n. 12, p. 9674–9684, 1 dez. 2018.

STEYER, T. E.; ABLES, A. Complementary and Alternative Therapies for Weight Loss. *Primary Care - Clinics in Office Practice*, v. 36, n. 2, p. 395–406, 2009.

STRINGHETTA-GARCIA, C. T. et al. Effects of strength training and raloxifene on femoral neck metabolism and microarchitecture of aging female Wistar rats. *Scientific Reports*, v. 7, n. 1, 1 dez. 2017.

TAGA, M. S.; MILLER, E. E.; PRATT, D. E. Chia seeds as a source of natural lipid antioxidants. *Am Oil Chem Soc*, v. 61, p. 928–931, 1984.

TEÓFILO, J. M.; LEONEL, D. V.; LAMANO, T. Cola beverage consumption delays alveolar bone healing: a histometric study in rats. *Brazilian Oral Research*, v. 24, n. 2, p. 177–181, 2010.

TRUNOVA, V. A. et al. Content of bioelements in the lungs and liver in rats with alimentary obesity. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, v. 33, p. 95–9, 2016.

TÜKEL, H. C.; DELILBAŞI, E. Effects of metabolic syndrome on jawbones and bone metabolic markers in sucrose-fed rats. *Odontology*, v. 107, n. 4, p. 457–464, 2019.

TVARIJONAVICIUTE, A.; MARTÍNEZ-SUBIELA, S.; CERON, J. J. Validation of 2 commercially available enzyme-linked immunosorbent assays for adiponectin determination in canine serum samples. *Canadian Journal of Veterinary Research*, v. 74, n. 4, p. 279–85, 2010.

UPADHYAY, J.; FARR, O. M.; MANTZOROS, C. S. The role of leptin in regulating bone metabolism. *Metabolism: Clinical and Experimental*, 2015.

WONG, S. K. et al. Exploring the potential of tocotrienol from *Bixa orellana* as a single agent targeting metabolic syndrome and bone loss. *Bone*, v. 116, p. 8–21, 2018.

YILDIRIM, M. et al. Yıldırım et al., 2020.pdf. *Cells Tissues Organs*, v. 209, n. 1, p. 64–74, 2020.

ZHAO, F. et al. Pomegranate extract and exercise provide additive benefits on improvement of immune function by inhibiting inflammation and oxidative stress in high-fat-diet-induced obesity rats. *Journal of Nutritional Biochemistry*, v. 32, p. 20–28, 2016.

ZHAO, L.-J. et al. Correlation of obesity and osteoporosis: effect of fat mass on the determination of osteoporosis. *J Bone Miner Res*, v. 23, n. 1, p. 17–29, 2008.

ZHU, M. et al. Vinpocetine inhibits RANKL-induced osteoclastogenesis and attenuates ovariectomy-induced bone loss. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, v. 123, n. October 2019, p. 109769, 2020.

## **2 CAPÍTULO 1 - O CONSUMO DE CHÁ MATE (ILEX PARAGUARIENSIS) DESCAFEINADO PREVINE O ESTRESSE OXIDATIVO ÓSSEO E A OBESIDADE INDUZIDA PELO CONSUMO DE REFRIGERANTE A BASE DE COLA EM RATOS**

**The consumption of decaffeinated mate tea (*Ilex paraguariensis*) prevents bone oxidative stress and obesity induced by the consumption of cola soft drinks in rats**

Ariana Aparecida Ferreira Pereira<sup>a</sup>, Amanda Regina Pinatti Menezes<sup>a</sup>, Murilo Catelani Ferraz<sup>a</sup>, Rosemeire Conceição Parra Pastor<sup>a</sup>, Franciele Rodrigues Macedo<sup>a</sup>, Camila Bianca dos Santos<sup>a</sup>, Ana Cláudia de Melo Estevanato Nakamune<sup>b</sup>, Eduardo Cassel<sup>c</sup>, Paulo César Ciarlini<sup>d</sup>

<sup>a</sup>Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba (FMVA), Universidade Estadual Paulista (UNESP), Araçatuba, São Paulo, Brasil.

<sup>b</sup>Departamento de Ciências Básicas, Faculdade de Odontologia de Araçatuba (FOA), Universidade Estadual Paulista (UNESP), Araçatuba, São Paulo, Brasil.

<sup>c</sup>Departamento de Engenharia Química, Faculdade de Engenharia, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.

<sup>d</sup>Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal, Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba (FMVA), Universidade Estadual Paulista (UNESP), Araçatuba, São Paulo, Brasil.

\*Autor para correspondência: Ariana Aparecida Ferreira Pereira, Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal, Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba, UNESP, Rua Clóvis Pestana, 793, Dona Amélia, CEP 16050-680, Araçatuba, SP, Brasil;  
E-mail: ariana-ferreira@hotmail.com; Telefone: +55 18 3636-1412.

### **Highlights**

- Chá mate descafeinado possui as mesmas propriedades terapêuticas que sua forma in natura
- Chá mate e chá mate descafeinado diminui o acúmulo de gordura
- Chá mate e chá mate descafeinado reduz o dano oxidativo ósseo

## 2.1 Resumo

**Background:** A obesidade é uma epidemia mundial de natureza multifatorial, causada principalmente pelo balanço energético positivo e hábitos alimentares não saudáveis. O refrigerante a base de cola (RBC) é um importante componente da dieta de cafeteria associada à obesidade e osteopatia em humanos. Há evidências de que o consumo de chá mate (CM) contribui para minimizar os efeitos indesejáveis do excesso de gordura e osteoporose, entretanto o seu consumo é contraindicado em indivíduos sensíveis à cafeína. Como alternativa tem sido proposto o consumo de chá mate descafeinado (CMD), entretanto ainda é desconhecido se a descafeinização afeta as propriedades benéficas de controle da obesidade e estresse oxidativo (EO) do CM.

**Material e Métodos:** Um estudo randomizado com mascaramento investigou a hipótese de que o CMD mantém a capacidade de minimizar o dano oxidativo e a lesão óssea em ratos obesos submetidos ao consumo excessivo de RBC. Para tal, 60 ratos foram distribuídos aleatoriamente em seis grupos (n = 10): controle (C); RBC, ratos tratados com RBC; CM, ratos tratados com CM; CMD, ratos tratados com CMD; RBC + CM e RBC + CMD. O grupo controle foi comparado aos demais quanto a sua constituição corporal (peso e índice de Lee) e perfil bioquímico plasmático (triglicerídeos, colesterol total, fosfatases alcalina (FA), cálcio total (Ca), leptina, adiponectina, osteocalcina (OCN), osteoprotegerina (OPG) e fosfatase ácida resistente ao tartarato (TRAP)). Para quantificar o EO e lesão tecidual foram mensuradas a densidade mineral óssea areal (DMOa), as substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), as atividades de superóxido dismutase (SOD) e glutathiona peroxidase (GPx).

**Resultados:** O aumento da obesidade e do EO ósseo induzidos pelo consumo de RBC por 18 semanas foi prevenido pelo consumo de CM ou CMD. O consumo de CMD, a semelhança do CM, diminuiu a % ganho de peso, as concentrações plasmáticas de triglicerídeos, colesterol total e leptina, reduziu o dano oxidativo (TBARS) e a atividade de TRAP, elevou a quantidade de adiponectina, a defesa antioxidante (SOD e GPx), as concentrações de Ca e OCN e a DMOa.

**Conclusão:** O CMD mantém propriedades benéficas da forma in natura quanto ao controle da obesidade e EO ósseo, sendo uma alternativa promissora dietética e fitoterápica viável para indivíduos sensíveis à cafeína.

**Palavras-chave:** ANTIOXIDANTES; OBESIDADE; OSSO; REFRIGERANTE.



## 2.2 Abstract

**Background:** Obesity is a worldwide epidemic of a multifactorial nature, caused mainly by positive energy balance and unhealthy eating habits. Cola soft drinks (CSD) is an important component of Cafeteria diet associated with obesity and osteopathy in humans. There is evidence that the consumption of mate tea (MT) contributes to minimize the undesirable effects of excess fat and osteoporosis, however its consumption is contraindicated in individuals sensitive to caffeine. As an alternative it has been proposed the consumption of decaffeinated mate tea (DMT), however it is still unknown if decaffeination affects the beneficial properties of controlling obesity and oxidative stress (OS) of MT.

**Material and Methods:** A randomized and blind study investigated the hypothesis that DMT maintain the ability to minimize oxidative damage and bone injury in obese rats submitted to excessive CSD consumption. For this, 60 rats were randomly assigned to six groups (n = 10): control (C); CSD, rats treated with CSD; MT, rats treated with DMT; CSD + MT and CSD + DMT. The control group was compared to the others regarding its body constitution (weight and Lee index) and plasma biochemical profile (triglycerides, total cholesterol, alkaline phosphatases (FA), total calcium (Ca), leptin, adiponectin, osteocalcin (OCN), osteoprotegerin (OPG) and tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP)). To quantify the OS and tissue lesion, the bone mineral density areal (DMOa), the reactive substances to thiobarbituric acid (TBARS), the activities of superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GPx) were measured.

**Results:** The increase of obesity and bone OS induced by the consumption of CSD for 18 weeks was prevented by the consumption of MT or DMT. The consumption of DMT, similar to MT, decreased the % weight gain, the plasma concentrations of triglycerides, total cholesterol and leptin, reduced the oxidative damage (TBARS) and the activity of TRAP, increased the amount of adiponectin, the antioxidant defense (SOD and GPx), the concentrations of Ca and OCN and DMOa.

**Conclusion:** DMT maintains beneficial properties of the in natura form in relation to the control of obesity and bone OS, being a promising dietary and phytotherapeutic alternative viable for individuals sensitive to caffeine.

**Keywords:** ANTIOXIDANTS; OBESITY; BONE; REFRIGERANT.

## 2.3 Introdução

A obesidade é uma doença crônica, caracterizada pelo acúmulo excessivo de tecido adiposo no organismo (NABAVI et al., 2015). Considerada como um dos principais problemas mundiais de saúde, a obesidade afeta mais de 30% da população humana nos países desenvolvidos e em desenvolvimento (TRUNOVA et al., 2016). A obesidade é um fator de alto risco para vários distúrbios metabólicos, como estresse oxidativo, inflamação, hiperlipidemia, hipertensão e resistência à insulina (LASKER et al., 2019). A diminuição do gasto energético devido ao sedentarismo e o maior consumo de alimento de alto valor energético constituem as principais causas de obesidade humana (RODRIGUES et al., 2015).

A dieta de cafeteria é constituída de alimentos muito palatáveis comumente consumidos por humanos e apresenta elevado potencial indutor de obesidade em ratos (SAMPEY et al., 2011). O refrigerante representa um importante componente na dieta de cafeteria humana, sendo que o consumo elevado de bebidas de cola sabidamente promove em ratos, obesidade (PALDÁNIUS et al., 2012) e alterações ósseas (RAPURI et al., 2001). Os refrigerantes contêm predominantemente água, ácido fosfórico, cafeína, açúcar, conservantes, corantes e palatilizantes diversos (EL-TERRAS et al., 2016). O consumo dessas bebidas atrasa a eliminação do metotrexato predispondo o consumidor à hipocalcemia (FARAG A.I.; AHMAD M. M.; GAMAL H. H., 2016). Além disso, a reabsorção e formação do osso também têm sido associadas à ingestão de refrigerante (TEÓFILO; LEONEL; LAMANO, 2010). O açúcar contido nos refrigerantes tem um forte efeito sobre o turnover ósseo (PALDÁNIUS et al., 2012) e a acidez do refrigerante causa acidose subclínica de baixo grau (SCIALLA; ANDERSON, 2013) que também pode ser prejudicial ao osso (MANGANO et al., 2014).

Há um crescente interesse por alimentos que previnem o acúmulo de gordura corporal e o risco de doenças endócrino-metabólicas e cardíacas (ARÇARI et al., 2013). Estudos evidenciam que o CM controla o estresse oxidativo (BRASILINO et al., 2017; PEREIRA et al., 2017a), a osteoporose (CONFORTI; GALLO; SARAVÍ, 2012; DA VEIGA et al., 2018) e a obesidade (GAMBERO; RIBEIRO, 2015). O CM é uma infusão das folhas secas de *Ilex paraguariensis*, planta da família Aquifoliaceae (HECK; DE MEJIA, 2007), uma bebida altamente consumida em países da América do Sul como Brasil, Argentina, Paraguai, Uruguai e que está se difundindo mundialmente, principalmente nos Estados Unidos (PEREIRA et al., 2017a). O CM apresenta um perfil nutracêutico, atuando como hipocolesterolêmico, hepatoprotetor, estimulante do sistema nervoso central (BORTOLI et al., 2017) e no controle do

acúmulo de gordura (GAMBERO; RIBEIRO, 2015). A atividade antioxidante do CM é atribuída aos polifenóis, principalmente os derivados cafeoilquínicos como o ácido clorogênico (HECK; DE MEJIA, 2007) que neutralizam as espécies reativas de oxigênio (ERO) e modulam a expressão de enzimas antioxidantes (BRACESCO et al., 2011).

Uma meta-análise de estudos prospectivos com mais de 200.000 participantes, indica que o consumo de café está associado ao aumento do risco de fraturas em mulheres (LIU H, YAO W, ZHANG W, ZHOU J, WU T, 2012). Este efeito negativo da cafeína também foi observado em ratos (BRUN et al., 2015b). Embora o CM possua alto teor de cafeína (330–480 mg/l), o seu teor é aproximadamente a metade do café (BRACESCO et al., 2011), havendo evidências de que o seu consumo diário aumenta a DMOa de mulheres na pós-menopausa (CONFORTI; GALLO; SARAVÍ, 2012). Este efeito benéfico sobre a DMOa pode ser parcialmente explicado pelo fato de o CM possuir grande quantidade de ácido clorogênico capaz de inibir osteoclastos (KWAK et al., 2013). Contudo, o teor de cafeína contido no CM comercial é um fator limitante para seu uso contínuo em pessoas sensíveis a esse composto ou hipertensos.

Nós investigamos a hipótese de que o CMD mantém as propriedades antioxidantes, prevenção da obesidade e lesões ósseas da forma *in natura*. Os resultados obtidos podem contribuir para que indivíduos sensíveis à cafeína possam se beneficiar dos efeitos fitoterápicos dessa erva.

## **2.4 Material e métodos**

Um estudo experimental controlado, randomizado e cego foi desenvolvido conforme aprovação da Comissão de Ética no uso de animais da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - FOA (UNESP), Araçatuba, São Paulo, Brasil (FOA N° 00545-2017).

### **2.4.1 Chá mate**

O CMD foi obtido por extração supercrítica, conforme Cassel et al. (E CASSEL, RMF VARGAS, GW BRUN, DE ALMEIDA, L COGOI, G FERRARO, 2010). Os lotes de CM e CMD foram fornecidos pelo Laboratório de Operações Unitárias da Faculdade de Engenharia – PUCRS, Porto Alegre, Brasil.

As amostras da erva foram fornecidas pela empresa Baldo S.A. (São Mateus do Sul/Paraná). O tipo de erva-mate é a sapecada (branqueada), ou seja, a planta não sofreu todo o processo de industrialização que passaria para ser comercializada. O teor de cafeína do CM é de 2,1%. Ambas as amostras possuem diâmetro de partícula médio de 0,428 mm e diferenciam-se

pelo processo de extração supercrítica que o chá descafeinado sofreu, reduzindo o teor de cafeína de 2% para 0,05% em massa. Atendendo às determinações da legislação quanto a um produto descafeinado, isto é, menos de 0,1% em massa de cafeína.

Os CM e CMD foram preparados diariamente e imediatamente antes da administração, como descrito por Pereira et al. (PEREIRA et al., 2017a). O conteúdo total de polifenóis foi estimado pelo método de Folin-Ciocalteu (TAGA; MILLER; PRATT, 1984). A capacidade antioxidante total foi mesurada pelo método FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) (BENZIE; STRAIN, 1996).

#### 2.4.2 Animais

Foram utilizados 60 machos de *Rattus norvegicus albinus*, linhagem Wistar, de 4 meses de idade, provenientes do Biotério da FOA (UNESP), Araçatuba, São Paulo, Brasil.

Os animais foram mantidos em gabinete com ambiente controlado ( $21\pm 2^{\circ}\text{C}$ ), umidade relativa entre  $55\pm 10\%$ , ciclo claro-escuro de 12h/12h e em número de três por gaiola, com livre acesso à água e ração comercial (Presence® - Ratos e Camundongos, Paulínia, SP, Brasil) por sete dias para aclimação.

#### 2.4.3 Delineamento

Após período de aclimação, os ratos foram aleatoriamente submetidos a seis diferentes tratamentos: Grupo controle C (n=10), tratados apenas com ração comercial; CM (n=10), tratados com chá mate; CMD (n=10), tratados com chá mate descafeinado; RBC (n=10), tratados com refrigerante a base de cola; RBC + CM (n=10); RBC + CMD (n=10). Os grupos CM, CMD, RBC + CM e RBC + CMD receberam, por 18 semanas, chá na dose de 20 mg/Kg/dia, através de sonda orogástrica (0,5 mL). Os ratos do grupo RBC foram submetidos ao mesmo procedimento de sondagem gástrica, substituindo o chá por água mineral. Os grupos RBC, RBC + CM e RBC + CMD receberam no mesmo período refrigerante a base de cola (Coca-Cola®) *ad libitum* e demais grupos água mineral. Todos os animais foram alimentados durante as 18 semanas experimentais com ração comercial (Presence®, Brasil) e o mesmo lote de Coca-Cola® tradicional e chá mate. O peso corporal e os consumos de água e ração foram acompanhados diariamente. O índice de obesidade para roedores (Índice de Lee) foi calculado semanalmente a partir do comprimento naso-anal e peso corporal, onde: Índice de Lee = (raiz cúbica ( $3\sqrt{\text{ }}$ ) do peso corporal (g)/comprimento naso-anal (cm) x 1000) (BERNARDIS; PATTERSON, 1968).

#### **2.4.4 Dimensionamento amostral, randomização, mascaramento e critérios de exclusão**

Com uso de um programa computacional (Open Epi, versão 3.01, 2006), o tamanho amostral foi calculado considerando-se um poder de teste  $\geq 0,80$  e valores médios e desvios-padrão obtidos em estudo piloto e de literatura (ALKHEDAIDE et al., 2016). Utilizando o mesmo programa computacional, os 60 ratos foram divididos aleatoriamente em seis grupos, sendo todos homogêneos quanto ao peso e idade. Ao final do experimento todos os ratos foram identificados de maneira que só o coordenador da pesquisa pudesse identificar, garantido que toda a colheita e análise laboratorial das amostras fossem realizadas às cegas. Ao longo do experimento não houve necessidade de exclusão de nenhum dos 60 ratos.

#### **2.4.5 Coleta das amostras**

Ao término do tratamento, os ratos em jejum alimentar (12 horas) foram anestesiados com pentobarbital (50 mg/Kg m.c.) para realização da punção cardíaca. O sangue obtido (8 mL) foi transferido para tubos heparinizados e centrifugado a 1000 x g durante 15 minutos a 4°C. O plasma foi removido por aspiração e em seguida congelado a -80°C até o momento das análises laboratoriais.

Imediatamente após morte por exsanguinação, foi realizada perfusão com solução fisiológica (NaCl 0,9% m/v) e colhidos os fêmures e tíbias. As tíbias foram mantidas em NaCl (0,9% m/v) a -20°C para realização da análise de densitometria óssea. Os fêmures foram armazenados em freezer -80°C até o preparo do homogenato, para as determinações de TBARS, SOD e GPx.

#### **2.4.6 Análises plasmáticas**

Triglicerídeos (método enzimático glicerol fosfato oxidase/peroxidase), colesterol total (método enzimático oxidase/peroxidase), atividade de Fosfatase Alcalina (método dietanolamina) e Cálcio (método colorimétrico cresolftaleína complexona) foram determinados em analisador bioquímico automatizado (BS-200 Chemistry Analyzer, Mindray Bio-Medical Electronics Co, Germany). Para todas as análises foi utilizado calibrador, controles níveis I e II e conjunto de reagentes comerciais (BioSystems, Barcelona, Spain).

A concentração de leptina (Leptina-ELISA, Millipore, Missouri, USA) foi determinada conforme Ishioka et al. (ISHIOKA et al., 2002); adiponectina (Adiponectina-ELISA, Millipore, Missouri, USA), conforme Tvarijonaviute et al. (TVARIJONAVICIUTE; MARTÍNEZ-SUBIELA; CERON, 2010); OCN, OPG e TRAP foram quantificadas por ensaios

imunoenzimáticos (ELISA, Uscn Life Science Inc., Wuhan, China), de acordo com os protocolos do fabricante.

#### **2.4.7 Análises ósseas**

Os fêmures foram homogeneizados em tampão Tris-HCl (100 mmol/L) + EDTA (50 mmol/L), pH 7,0; proporção 10% m/v, utilizando Potter (TE -099 Tecnal) com rotação de 760 x g por 40 segundos e centrifugados a 1000 x g por 10 minutos a 4°C. Os sobrenadantes foram utilizados para as determinações de TBARS, SOD e GPx. As substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico tecidual (TBARS) foram determinadas como descrito por Buege e Aust (BUEGE; AUST, 1978). A atividade de SOD foi quantificada pelo método de Marklund e Marklund (MARKLUND; MARKLUND, 1974). A atividade de GPx pelo método de Flohé e Günzler (FLOHÉ; GÜNZLER, 1984).

O conteúdo mineral ósseo - CMO (g) e a área óssea (cm<sup>2</sup>) foram analisados nas tíbias utilizando o DEXA (*dual-energy X-ray absorptiometry*, Lunar® DPX Alpha, WI, EUA), com software adaptado para pequenos animais (STRINGHETTA-GARCIA et al., 2017). Esses dados foram utilizados para a determinação da DMOa (g/cm<sup>2</sup>). Para isso, as tíbias foram descongeladas e posicionadas no plano frontal e na vista anterior na mesa do scanner, todas orientadas da mesma forma em recipiente com 2 cm de água, de acordo com as instruções do fabricante. O mesmo investigador analisou todos os exames. Para a análise, identificou-se a região de interesse utilizando quadrado com área conhecida (0,110 mm<sup>2</sup>), localizada na região da diáfise tibial de todas as amostras.

#### **2.4.8 Análise estatística**

A análise estatística foi realizada utilizando o programa GraphPad Prism (versão 5.0, GraphPad Software, Inc). Os dados foram analisados quanto à normalidade da distribuição (Teste KS) e posteriormente submetidos à análise de variância (ANOVA) e pós-teste de Tukey. O poder do teste foi determinado utilizando o programa Open Epi, versão 3.01 (2006).

## **2.5 Resultados**

### **2.5.1 Propriedade antioxidante do chá mate descafeinado**

Comparado ao CM, a concentração total de polifenóis do CMD foi discretamente menor (105,48 vs 117,5 mg de ácido gálico/g de chá), o mesmo acontecendo em relação à capacidade

antioxidante total (637 vs 781  $\mu\text{mol/g}$  de chá). A descafeinização do CM por sublimação não alterou significativamente seu teor de polifenóis e capacidade antioxidante.

### 2.5.2 Composição corporal e ingestão alimentar e de água

Não houve diferença significativa quanto ao peso inicial, evidenciando a homogeneidade dos animais dos diferentes grupos no início do experimento. Observamos que o peso final de ratos alimentados com RBC foi maior, apesar do menor consumo de ração e água. Porém tal aumento de peso final não foi observado quando o RBC foi consumido associado ao CM e CMD (Tabela 1). O consumo de CM ou CMD não diminuiu a ingestão de ração e de água nos animais, com ou sem consumo de RBC (Tabela 1).

**Tabela 1.** Valores médios e desvios padrão do peso, ingestão de ração e água de ratos Wistar referentes ao período de 18 semanas de consumo de ração comercial (C), associado ao consumo de chá mate (CM) ou chá mate descafeinado (CMD), associado ao consumo de refrigerante a base de cola (RBC), com CM (RBC + CM) ou CMD (RBC + CMD)

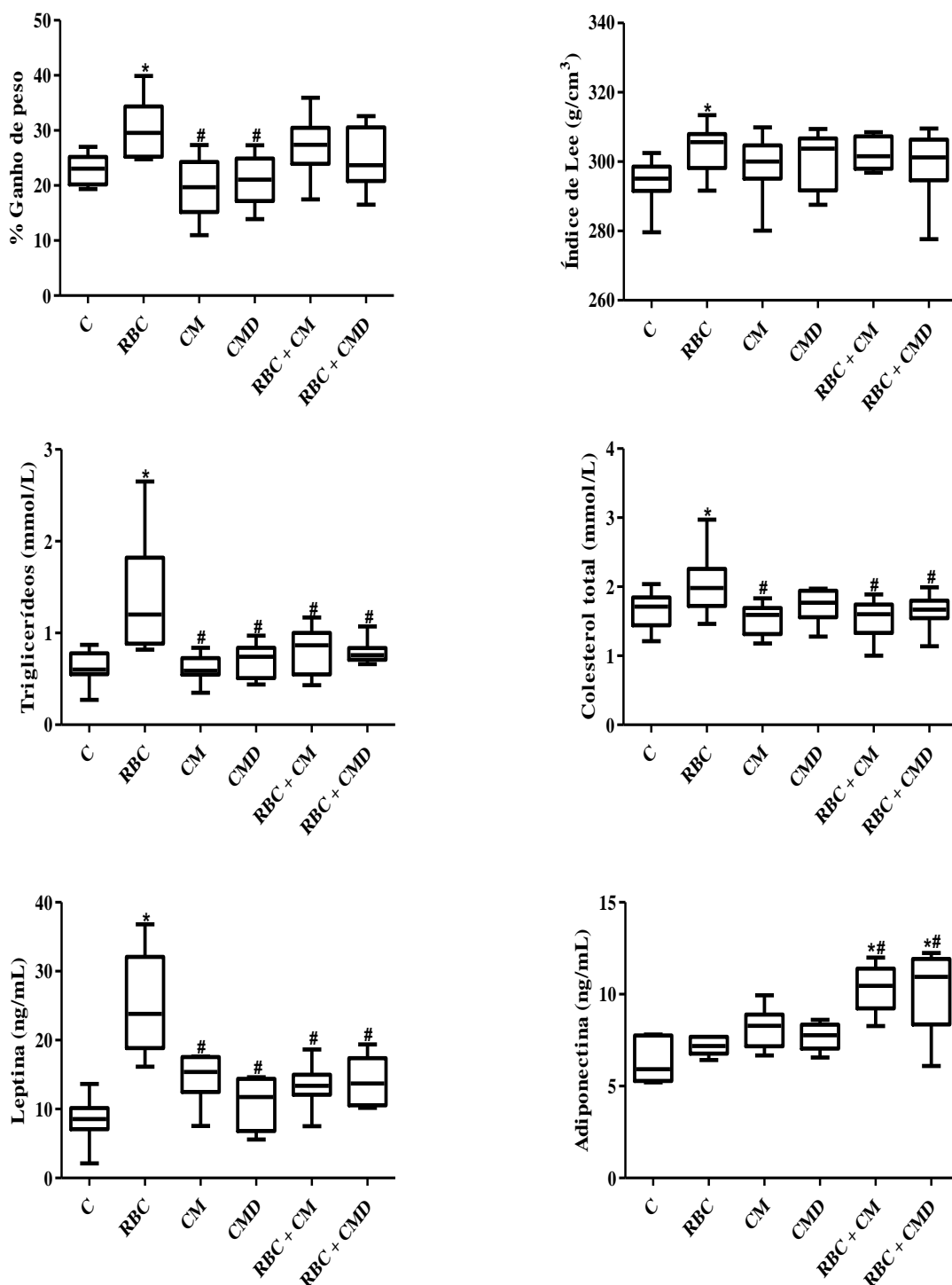
	Peso inicial (g)	Peso final (g)	Ingestão alimentar (g/dia)	Ingestão de água (mL)
<b>C</b>	416,4 $\pm$ 10,34	520,5 $\pm$ 9,70	86,2 $\pm$ 13,15	155,1 $\pm$ 37,82
<b>CM</b>	416,9 $\pm$ 10,17	509,3 $\pm$ 8,79 <sup>#</sup>	88,2 $\pm$ 6,11	161,0 $\pm$ 21,76
<b>CMD</b>	438,5 $\pm$ 9,80	516,8 $\pm$ 7,96 <sup>#</sup>	86,3 $\pm$ 8,29	163,4 $\pm$ 29,62
<b>RBC</b>	434,3 $\pm$ 8,68	565,3 $\pm$ 8,55 <sup>*</sup>	67,4 $\pm$ 7,13 <sup>*</sup>	33,1 $\pm$ 15,30 <sup>*</sup>
<b>RBC + CM</b>	423,3 $\pm$ 6,70	548,3 $\pm$ 7,16	65,4 $\pm$ 7,41 <sup>*</sup>	35,2 $\pm$ 15,99 <sup>*</sup>
<b>RBC + CMD</b>	422,4 $\pm$ 7,44	536,8 $\pm$ 9,25	67,8 $\pm$ 6,47 <sup>*</sup>	35,6 $\pm$ 16,07 <sup>*</sup>

Pós-teste de Tukey, <sup>\*</sup>p<0,05 quando comparado ao grupo C; <sup>#</sup>p<0,05 quando comparado ao grupo RBC.

### 2.5.3 O consumo de CM ou CMD preveniu a obesidade induzida pelo consumo de refrigerante

O aumento do ganho de peso, índice de Lee e leptina de ratos Wistar após 18 semanas de tratamento confirmaram nossa hipótese inicial de que o consumo de RBC induz obesidade e que a ingestão diária de CM com e sem cafeína previne a hiporcolesterolemia e hipotriglicedemia (Figura 1). O aumento desses indicadores de dislipemia e de obesidade não foram significativos nos ratos que consumiram RBC junto com CM e CMD, confirmando também o efeito antiobesidade desse fitoterápico (Figura 1). Nos grupos RBC + CM e RBC + CMD a

concentração plasmática de adiponectina aumentou significativamente em relação ao grupo controle (Figura 1).

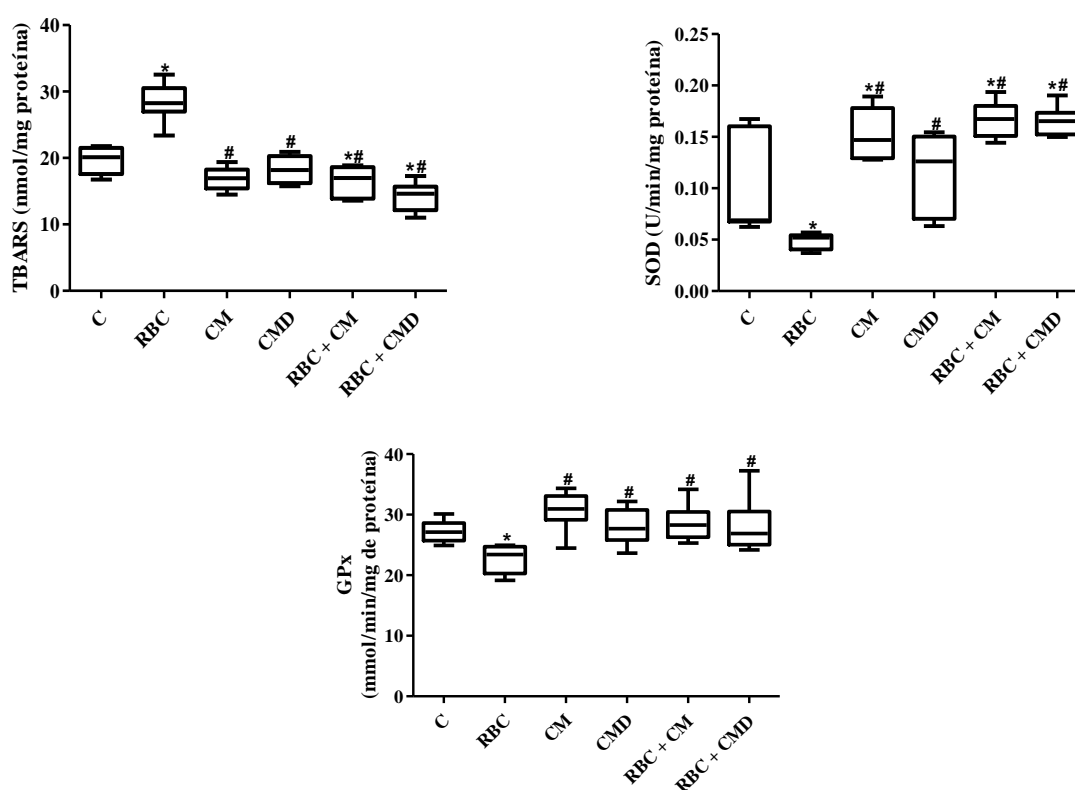


**Figura 1.** Comparação da % ganho de peso, índice de Lee e perfil metabólico plasmático (triglicerídeos, colesterol total, leptina e adiponectina) de ratos Wistar após 18 semanas de tratamento. Controle (C), tratados com refrigerante a base de cola (RBC), chá mate (CM), chá mate descafeinado (CMD), RBC e CM (RBC + CM), e RBC e CMD (RBC + CMD). Box & Whisker Plot com respectivos quartis (Q1, Q2 e Q3, valores máximos e mínimos). \* e # representam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) em relação ao grupo C e RBC, respectivamente.



### 2.5.4 O consumo de CM ou CMD preveniu o estresse oxidativo ósseo na obesidade induzida pelo consumo de refrigerante

No presente estudo, o EO ósseo foi comprovado pelo aumento significativo de TBARS concomitante à diminuição da atividade das enzimas antioxidantes SOD e GPx nos animais que consumiram diariamente RBC (Figura 2). Esse dano oxidativo tecidual não ocorreu nos demais grupos que consumiram CM com e sem cafeína (Figura 2), confirmando nossa hipótese inicial de que a ingestão diária de CM ou CMD previne de modo similar o estresse oxidativo ósseo em ratos.

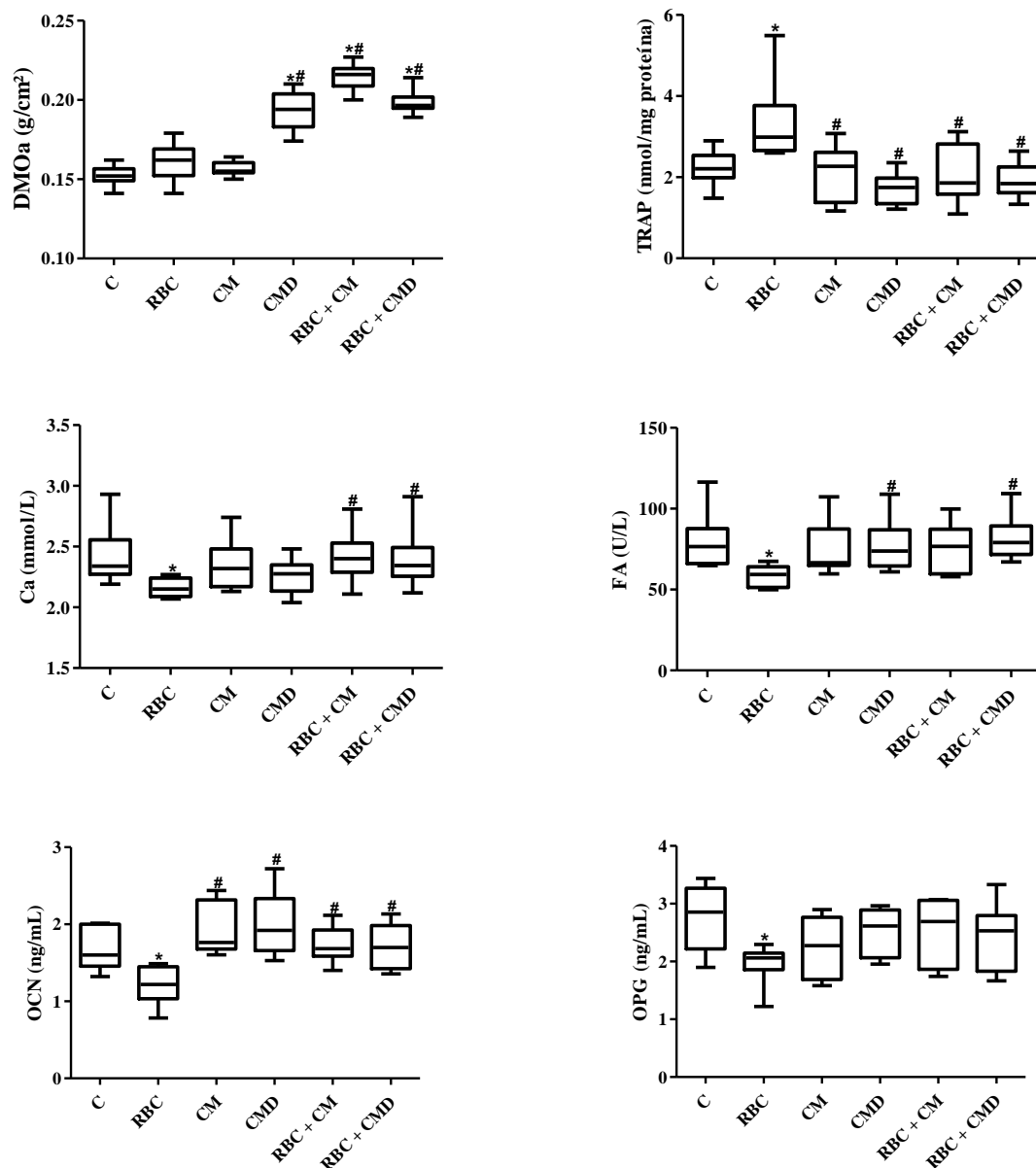


**Figura 2.** Avaliação do estresse oxidativo ósseo. Peroxidação lipídica (TBARS), superóxido dismutase (SOD) e glutathiona peroxidase (GPx) do osso de ratos Wistar após 18 semanas de tratamento. Controle (C), tratados com refrigerante a base de cola (RBC), chá mate (CM), chá mate descafeinado (CMD), RBC e CM (RBC + CM), e RBC e CMD (RBC + CMD). Box & Whisker Plot com respectivos quartis (Q1, Q2 e Q3, valores máximos e mínimos). \* e # representam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) em relação ao grupo C e RBC, respectivamente.

### 2.5.5 A ingestão de CM ou CMD preveniu as alterações ósseas decorrentes da obesidade induzida pelo consumo de refrigerante

O consumo de RBC por 18 semanas não alterou a DMOa da tíbia (Figura 3). Neste mesmo tempo, o consumo de CMD promoveu aumento da massa óssea tanto em ratos

submetidos ao consumo de RBC quanto na dieta padrão (Figura 3). Interessante que o consumo de CM aumentou a DMOa apenas no grupo alimentado com RBC (Figura 3).



**Figura 3.** Avaliação do metabolismo e estrutura óssea. Densidade mineral ósseo areal (DMOa), concentrações plasmáticas de fosfatase ácida resistente ao tartarato (TRAP), cálcio total (Ca), fosfatase alcalina (FA), osteocalcina (OCN) e osteoprotegerina (OPG) de ratos Wistar após 18 semanas de tratamento. Controle (C), tratados com refrigerante a base de cola (RBC), chá mate (CM), chá mate descafeinado (CMD), RBC e CM (RBC + CM), e RBC e CMD (RBC + CMD). Box & Whisker Plot com respectivos quartis (Q1, Q2 e Q3, valores máximos e mínimos). \* e # representam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) em relação ao grupo C e RBC, respectivamente.

A elevação da atividade de TRAP indicou aumento de reabsorção óssea nos ratos que consumiram RBC (Figura 3). Uma significativa diminuição dos marcadores de formação óssea (Ca, FA, OCN e OPG) também ocorreu nos animais obesos, porém não nos demais grupos que consumiram CM com e sem cafeína (Figura 3).

Este conjunto de resultados confirmam nossa hipótese inicial de que alterações ósseas decorrentes da obesidade induzida pelo consumo de RBC podem ser prevenidas com o consumo de CM e CMD.

## 2.6 Discussão

Sabe-se que o chá mate possui várias ações biológicas atribuídas principalmente ao alto teor de compostos de polifenóis, como propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, quimiopreventivas, e inibidoras de aterosclerose e perda óssea na perimenopausa (DE OLIVEIRA et al., 2017; MATSUMOTO et al., 2009). No CM estão presentes ácido cis-3-O-cafeoilquínico, ácido 5-O-p-cumaroilquinico, ácido 3-O-feroailquinico e ácido 4,5-di-O-cafeoilquinico (PEREIRA et al., 2017a) que podem ser detectados no plasma e vários tecidos (fígado, rins, estômago, coração e músculos) logo após sua ingestão (DE OLIVEIRA et al., 2017). Esses ácidos clorogênicos são responsáveis pela atividade antioxidante e por algumas propriedades farmacológicas do mate (GAMBERO; RIBEIRO, 2015; PEREIRA et al., 2017a, 2017b). Entretanto, não há consenso sobre qual dose ou período de tratamento são mais relevantes para garantir propriedades biológicas (BRASILINO et al., 2017). A suplementação de CM, 1 g/Kg/dia, por 4 semanas alterou a produção de interleucinas, diminuiu o peso e melhorou os níveis séricos de colesterol em ratos (CARMO et al., 2013). CM administrado por 8 semanas (1 g/Kg/dia) gerou potente efeito antiobesidade em ratos (ARÇARI et al., 2009), enquanto que uma menor dose (1 mg/Kg/dia) também promoveu ações antiobesidade e anti-inflamatória significativas (ARÇARI et al., 2011, 2013). Mulheres na pós-menopausa, que consumiram diariamente 1L de mate por 4 anos aumentaram a DMOa (CONFORTI; GALLO; SARAVÍ, 2012). O ácido clorogênico mostrou-se eficaz no tratamento de necrose da cabeça do fêmur por meio de proteção dos osteoblastos e redução de apoptose (ZHAO et al., 2016). Os ácidos p-coumarico, cafeico e ferúlico estimulam a proliferação de células osteoblásticas (BUROKAS et al., 2017). As catequinas estimulam a atividade osteoblástica e inibem a diferenciação dos osteoclastos (BRASILINO et al., 2017).

A dieta de cafeteria em ratos é considerada um modelo experimental robusto para estudos sobre a obesidade humana, sendo capaz de aumentar o peso corporal e os parâmetros lipídicos e

energéticos (SAMPEY et al., 2011). Embora o consumo de RBC seja crescente na sociedade moderna, pouco se sabe sobre a obesidade induzida pela ingestão excessiva dessa bebida. Assim como no presente estudo, ratos Sprague-Dawley alimentados com RBC por 4 semanas também tiveram diminuição de ingestão de água concomitante às alterações na composição corporal (OGUR et al., 2007), provavelmente devido ao efeito de saciedade da sede promovida pelo RBC. Diferentemente de outro estudo (OGUR et al., 2007), nossos achados são concordantes com os de Garcia-Contreras et al. (GARCÍA-CONTRERAS et al., 2000), que também observaram redução de ingestão alimentar em ratos que consumiram RBC.

Nós evidenciamos que o consumo de RBC durante 18 semanas promove obesidade em ratos caracterizada por aumento do ganho de peso, Índice de Lee e concentrações plasmáticas de triglicérides, colesterol total e leptina.

A leptina é um hormônio derivado de adipócitos que desempenha papel importante na homeostase e regulação do gasto energético (UPADHYAY; FARR; MANTZOROS, 2015). Concentração aumentada ou sensibilidade atenuada de leptina estão ligadas ao acúmulo excessivo de triglicérides (BUYUKDERE; GULEC; AKYOL, 2019). No presente estudo, a leptina aumentou consideravelmente nos ratos que consumiram RBC, semelhante ao observado na obesidade induzida por meio de dieta (ATHESH; JOTHI, 2017; BUYUKDERE; GULEC; AKYOL, 2019; FEIJÓ et al., 2019; LAVET et al., 2016). Há relatos de que o aumento de leptina favorece o estabelecimento de obesidade, resistência à insulina e hiperinsulinemia (LÓPEZ-JARAMILLO et al., 2014), além de atuar no *turnover* ósseo (CAO, 2011). Concentração elevada de leptina ativa o sistema nervoso simpático para suprimir o apetite e inibir a formação óssea simultaneamente (WONG et al., 2018). Esta ação acontece por meio de um mecanismo de estímulo à resposta inflamatória que induz perda óssea a partir da ativação da via RANK/RANKL/OPG (CAO, 2011).

A adiponectina também é um hormônio peptídico sintetizado pelos adipócitos e, ao contrário da leptina, sua concentração é regulada negativamente pelo acúmulo de gordura (RYO et al., 2004). A deficiência desse hormônio geralmente contribui para características de resistência à insulina, dislipidemia e hipertensão (IZADI; FARABAD; AZADBAKHT, 2013). Além disso, a adiponectina e seus receptores são expressos nos osteoblastos, sugerindo seu papel na regulação do metabolismo ósseo (WONG et al., 2018). Nós verificamos uma tendência à diminuição de adiponectina nos ratos alimentados com RBC, também observada em humanos (RAZNY et al., 2017).

Doses de 20 mg/Kg/dia de CM ou CMD foram capazes de diminuir o ganho de peso, as concentrações plasmáticas de triglicerídeos, colesterol total e leptina, além de elevar a quantidade de adiponectina em ratos alimentados com RBC. Um primeiro estudo sobre o efeito antiobesidade do mate reporta perda de peso por mais de 45 dias em pacientes com excesso de gordura (ANDERSEN; FOGH, 2001). Posteriormente, foi comprovado o efeitos hipocolesterolêmico e hipertrigliceridêmico da erva-mate em indivíduos com dislipidemia (DE MORAIS et al., 2009). O CM reduz a concentração de leptina estimulando a saciedade em camundongos (HUSSEIN et al., 2011a). Em experimentos realizados em modelos de obesidade induzida por dieta, o mate diminui o ganho de peso, acúmulo de gordura visceral e os níveis séricos de colesterol, triglicerídeos e leptina, além de aumentar a concentração de adiponectina (ARÇARI et al., 2009, 2013; BORGES et al., 2013; CARMO et al., 2013; KANG et al., 2012; LIMA et al., 2014; PAGANINI STEIN et al., 2005; PANG J, CHOI Y, 2008).

O tecido adiposo além de armazenar triglicerídeos, também é um órgão endócrino que secreta citocinas e adipocinas que contribuem para a inflamação e desenvolvimento do EO (FERNÁNDEZ-SÁNCHEZ et al., 2011). O EO está associado a anormalidades metabólicas, incluindo hiperinsulinemia, alterações no metabolismo de carboidratos e lipídios, aumento da massa adiposa, armazenamento de triglicerídeos e elevação de inflamação sistêmica (IMESSAOUDENE et al., 2016). Além disso, o EO pode promover deterioração e diminuição da massa óssea, alterando o equilíbrio entre dano e reparo ósseos (LIU; CAO; KONG, 2019). O EO promovido pelo consumo de dieta hipercalórica é evidente na maioria dos modelos experimentais e pacientes obesos (LASKER et al., 2019). No presente estudo, o aumento da peroxidação lipídica e diminuição das atividades de SOD e GPx fortalece a hipótese de que ocorre um comprometimento da defesa antioxidante tecidual de ratos obesos que consumiram RBC. O consumo de CM ou CMD preveniu o EO ósseo em ratos que consumiram RBC, uma vez que possui capacidade de neutralizar as ERO e modular as atividades das enzimas antioxidantes. Estudos com dose diária semelhante a nossa observaram aumento da capacidade antioxidante total e modulação das atividades de SOD, GPx e CAT em diferentes tecidos em ratas (PEREIRA et al., 2017a, 2017b).

O EO desempenha papel fundamental na remodelação óssea (JIANG et al., 2020), sendo que o excesso de ERO possui um efeito ósseo negativo causado pela disfunção dos osteoblastos e ativação dos osteoclastos (CALLAWAY; JIANG, 2015). Além disso, as ERO podem desempenhar papel essencial durante a reabsorção óssea (ZHU et al., 2020), uma vez que aumentam significativamente após estimulação por RANKL (ligante do receptor do ativador do

fator nuclear Kappa B) (ZHU et al., 2020). Quando há maior reabsorção, a microestrutura trabecular é alterada e a mobilização de Ca no osso aumenta (OGUR et al., 2007), o que pode explicar a diminuição da concentração plasmática de Ca nos ratos obesos que consumiram RBC. Acredita-se que o teor de ácido fosfórico seja o elo causal entre o consumo de RBC e o estabelecimento de alterações do metabolismo de Ca. Além disso, o fosfato exógeno inibe a hidroxilase renal e reduz a síntese de vitamina D (SONG et al., 2018), levando a hipocalcemia por bloquear a absorção intestinal e a reabsorção renal de cálcio. (GARCÍA-CONTRERAS et al., 2000).

A determinação de marcadores ósseos plasmáticos pode refletir diretamente o equilíbrio entre formação e reabsorção e, portanto, pode ser usada para evidenciar a deterioração no osso (LIU et al., 2015). No presente estudo, o consumo de RBC reduziu a atividade de FA, as concentrações de OCN, OPG e aumentou a atividade de TRAP. A redução da atividade de FA está relacionada à diminuição da função osteoblástica, uma vez que essa enzima é produzida em grande quantidade durante a formação óssea (TÜKEL; DELILBAŞI, 2019). Em outro estudo, a diminuição de FA também foi observada em ratos que consumiram RBC (GARCÍA-CONTRERAS et al., 2000). A explicação para esse achado pode ser o conteúdo de cafeína das bebidas. Há relatos de que a cafeína reduz a síntese de FA e inibe a formação de uma matriz extracelular competente durante a sequência de diferenciação dos osteoblastos (GARCÍA-CONTRERAS et al., 2000). A OCN, sintetizada por osteoblastos maduros, desempenha papel importante na regulação metabólica, mineralização óssea e homeostase do Ca (KUO; CHEN, 2017). Devido a isso, a diminuição de OCN observada em nosso trabalho pode estar relacionada a menor concentração de Ca plasmático em ratos que consumiram RBC.

Os osteoblastos não participam apenas da formação óssea, mas também se acoplam aos osteoclastos e ativam a liberação de várias citocinas que reabsorvem os ossos (QIN et al., 2019). As citocinas estimulam a expressão de RANKL promovendo diferenciação de precursores para osteoclastos (QIN et al., 2019) e inibição da expressão de OPG, que atua como receptora de RANKL e inibidora de osteoclastogênese (KUO; CHEN, 2017). Os osteoclastos maduros se diferenciam em grandes células multinucleadas caracterizadas pela elevada expressão de TRAP (KUO; CHEN, 2017). A nossa observação de que o TRAP aumenta em ratos obesos que consumiram RBC também foi relatada por Minematsu et al. (MINEMATSU; NISHII; SAKATA, 2018) que ofertaram dieta rica em gordura e sacarose.

Embora tenha sido relatada correlação positiva entre gordura corporal e DMOa (DIMITRI et al., 2012), no presente estudo, a densidade óssea dos ratos obesos não diferiram do

controle. Trata-se de tema controverso. Acredita-se que a obesidade em adultos tende a proteger o osso, mas as alterações hormonais ou mecânicas são desconhecidas (DIMITRI et al., 2012). No entanto, estudos em humanos sugerem que a alta quantidade de gordura pode estar associada a menor DMOa (ZHAO et al., 2008). Alguns trabalhos incorporam peso com massa magra e gorda em modelos estatísticos, gerando colinearidade entre variáveis que podem gerar falsas informações da relação entre gordura e osso (REID, 2010).

Neste estudo, as alterações ósseas em ratos obesos que consumiram refrigerante foram prevenidas pelo consumo de CM ou CMD. O consumo de CM por humanos (CONFORTI; GALLO; SARAVÍ, 2012) e animais (PEREIRA et al., 2017b) está associado a maior DMOa na coluna lombar e no colo do fêmur. Em ratos tratados com mate foi observado melhora na formação óssea devido ao aumento da área do osso e da densidade de osteócitos associado à maior concentração de OCN (BRASILINO et al., 2017). Diminuição da atividade de TRAP também foi observada em estudo sobre a remodelação do colo do fêmur de ratas na perimenopausa tratadas com CM (PEREIRA et al., 2017b). No presente estudo, apenas o mate descafeinado foi eficaz em aumentar a atividade de FA, semelhante ao trabalho que utilizou CM solúvel (BRASILINO et al., 2017).

Obtivemos evidências que tanto o CM quanto o CMD foram eficazes em diminuir o EO ósseo ao modular as atividades de SOD e GPx, o que resultou em alteração na remodelação óssea com aumento de OCN e redução de TRAP. Isso se refletiu no aumento da DMOa, evidenciando que o mate potencialmente pode ser utilizado numa estratégia não farmacológica e nutricional na prevenção da perda óssea. Por fim, os resultados são fortes indicativos que o CMD mantém as propriedades benéficas da forma *in natura*, sendo, portanto, uma alternativa dietética e fitoterápica viável para indivíduos sensíveis à cafeína.

## **2.7 Agradecimentos**

Agradecemos à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP (Processo: 2014/20662-0) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES, por apoiar o presente estudo. Também agradecemos ao técnico Pedro Luís Florindo do Departamento de Produção e Saúde Animal da Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba – FMVA/UNESP, Araçatuba, São Paulo, Brasil, pela assistência na colheita das amostras, manutenção dos animais e processamento dos ossos.

## 2.8 Contribuições dos autores

Ariana Aparecida Ferreira Pereira: cuidados com animais experimentais, coleta, análise e tabulação de dados, discussão dos resultados e edição do artigo. Amanda Regina Pinatti Menezes, Murilo Catelani Ferraz, Rosemeire Conceição Parra Pastor, Franciele Rodrigues Macedo e Camila Bianca dos Santos: coleta e análise de dados e discussão dos resultados. Ana Cláudia de Melo Estevanato Nakamune: padronização das técnicas antioxidantes e discussão dos resultados. Eduardo Cassel: fornecimento dos lotes de CM *in natura* e descafeinado. Paulo César Ciarlini: orientação e acompanhamento de todas as etapas experimentais, análise de dados, discussão dos resultados, edição do artigo e aprovação final para a publicação deste manuscrito.

## 2.9 Conflitos de interesse

Os autores declararam que não há conflitos de interesse.

## REFERÊNCIAS

- ALKHEDAIDE, A. et al. Chronic effects of soft drink consumption on the health state of Wistar rats: A biochemical, genetic and histopathological study. *Molecular Medicine Reports*, v. 13, n. 6, p. 5109–5117, 2016.
- ANDERSEN, T.; FOGH, J. Weight loss and delayed gastric emptying following a South American herbal preparation in overweight patients. *J Hum Nutr Diet*, v. 14, n. 3, p. 243–250, 2001.
- APOVIAN, C. Sugar-sweetened soft drinks, obesity, and type 2 diabetes. *JAMA*, v. 292, n. 8, p. 978–9, 2004.
- ARÇARI, D. P. et al. Antiobesity effects of yerba maté extract (*Ilex paraguariensis*) in high-fat diet-induced obese mice. *Obesity (Silver Spring)*, v. 17, n. 12, p. 2127–2133, 2009.
- ARÇARI, D. P. et al. Anti-inflammatory effects of yerba maté extract (*Ilex paraguariensis*) ameliorate insulin resistance in mice with high fat diet-induced obesity. *Mol Cell Endocrinol*, v. 335, n. 2, p. 110–115, 2011.
- ARÇARI, D. P. et al. The in vitro and in vivo effects of yerba mate (*Ilex paraguariensis*) extract on adipogenesis. *Food Chem*, v. 141, n. 2, p. 809–815, 2013.
- ATHESH, K.; JOTHI, G. Pharmacological screening of anti-obesity potential of *acorus calamus* linn. In high fat cafeteria diet fed obese rats. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, v. 10, n. 4, p. 384–390, 2017.



- BALSAN, G. et al. Effect of yerba mate and green tea on paraoxonase and leptin levels in patients affected by overweight or obesity and dyslipidemia: A randomized clinical trial. *Nutrition Journal*, v. 18, n. 1, p. 1–10, 2019.
- BARROSO, M. V. et al. Mate tea reduces high fat diet-induced liver and metabolic disorders in mice. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, v. 109, n. August 2018, p. 1547–1555, 2019.
- BASU, S. et al. Relationship of soft drink consumption to global overweight, obesity, and diabetes: A cross-national analysis of 75 countries. *American Journal of Public Health*, 2013.
- BECKER, A. M. et al. Spray-Dried Yerba Mate Extract Capsules: Clinical Evaluation and Antioxidant Potential in Healthy Individuals. *Plant Foods for Human Nutrition*, v. 74, n. 4, p. 495–500, 2019.
- BENZIE, I. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Anal Biochem*, v. 239, n. 1, p. 70–76, 1996.
- BERNARDI, M. M.; SPINOSA, H. S.; RICCI, E. L. A eficácia e segurança do insumo fitoterápico Pholia Negra. *Revista RX*, v. 3, n. 13, 2011.
- BERNARDIS, L. L.; PATTERSON, B. D. 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. 527–528, 1968.
- BOAVENTURA, B. C. B. et al. Association of mate tea (*Ilex paraguariensis*) intake and dietary intervention and effects on oxidative stress biomarkers of dyslipidemic subjects. *Nutrition*, v. 28, n. 6, p. 657–664, 2012.
- BOAVENTURA, B. C. B. et al. Effect of yerba mate (*Ilex paraguariensis* A. St. Hil.) infusion obtained by freeze concentration technology on antioxidant status of healthy individuals. *LWT - Food Science and Technology*, v. 62, n. 2, p. 948–954, 2015.
- BORGES, M. C. et al. The effect of mate tea (*Ilex paraguariensis*) on metabolic and inflammatory parameters in high-fat diet-fed Wistar rats. *Int J Food Sci Nutr*, v. 64, n. 5, p. 561–569, 2013.
- BORTOLI, P. M. et al. *Ilex paraguariensis*: Potential antioxidant on aluminium toxicity, in an experimental model of Alzheimer’s disease. *J Inorg Biochem*, 2017.
- BRACESCO, N. et al. Recent advances on *Ilex paraguariensis* research: minireview. *J Ethnopharmacol*, v. 136, n. 3, p. 378–384, 2011.
- BRASILINO, M. D. S. et al. Mate tea (*Ilex paraguariensis*) improves bone formation in the alveolar socket healing after tooth extraction in rats. *Clin Oral Investig*, 2017.

- BRAVO, L. et al. Hypocholesterolaemic and antioxidant effects of yerba mate (*Ilex paraguariensis*) in high-cholesterol fed rats. *Fitoterapia*, v. 92, p. 219–229, 2014.
- BRUN, L. R. et al. Effects of Yerba Mate (*Ilex paraguariensis*) on Histomorphometry, Biomechanics, and Densitometry on Bones in the Rat. *Calcified Tissue International*, v. 97, n. 5, p. 527–534, 2015a.
- BRUN, L. R. et al. Effects of Yerba Mate (*Ilex paraguariensis*) on Histomorphometry, Biomechanics, and Densitometry on Bones in the Rat. *Calcif Tissue Int*, v. 97, n. 5, p. 527–534, 2015b.
- BUEGE, J. A.; AUST, S. D. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol*, v. 52, p. 302–310, 1978.
- BUROKAS, A. et al. Extinction and reinstatement of an operant responding maintained by food in different models of obesity. *Addict Biol*, 2017.
- BUYUKDERE, Y.; GULEC, A.; AKYOL, A. Cafeteria diet increased adiposity in comparison to high fat diet in young male rats. *PeerJ*, v. 2019, n. 4, 2019.
- CALLAWAY, D. A.; JIANG, J. X. Reactive oxygen species and oxidative stress in osteoclastogenesis, skeletal aging and bone diseases. *Journal of bone and mineral metabolism*, v. 33, n. 4, p. 359–70, 23 jul. 2015.
- CAO, J. J. Effects of obesity on bone metabolism. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research*, v. 6, n. 30, 2011.
- CARILLON, J. et al. Cafeteria diet induces obesity and insulin resistance associated with oxidative stress but not with inflammation: improvement by dietary supplementation with a melon superoxide dismutase. *Free Radical Biology and Medicine*, v. 65, p. 254–261, 2013.
- CARMO, L. S. et al. The Effects of Yerba Maté (*Ilex Paraguariensis*) consumption on IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  and IL-10 production by bone marrow cells in wistar rats fed a high-fat diet. *Int J Vitam Nutr Res*, v. 83, n. 1, p. 26–35, 2013.
- CAVAGNI, J. et al. Obesity and Hyperlipidemia Modulate Alveolar Bone Loss in Wistar Rats. *Journal of Periodontology*, v. 87, n. 2, p. e9–e17, 2016.
- CHEKKAL, H. et al. Cactus young cladodes improves unbalanced glycemic control, dyslipidemia, prooxidant/antioxidant stress biomarkers and stimulate lecithin-cholesterol acyltransferase and paraoxonase activities in young rats after cafeteria diet exposure. *Nutrition and Food Science*, v. 50, n. 2, p. 288–302, 2019.

- CHOI, M. S. et al. Long-Term Dietary Supplementation with Yerba Mate Ameliorates Diet-Induced Obesity and Metabolic Disorders in Mice by Regulating Energy Expenditure and Lipid Metabolism. *Journal of Medicinal Food*, v. 20, n. 12, p. 1168–1175, 2017.
- CONCEIÇÃO, E. P. S. et al. Effects of *Ilex paraguariensis* (yerba mate) on the hypothalamic signalling of insulin and leptin and liver dysfunction in adult rats overfed during lactation. *Journal of Developmental Origins of Health and Disease*, v. 8, n. 01, p. 123–132, 9 fev. 2017.
- CONFORTI, A. S.; GALLO, M. E.; SARAVÍ, F. D. Yerba Mate (*Ilex paraguariensis*) consumption is associated with higher bone mineral density in postmenopausal women. *Bone*, v. 50, n. 1, p. 9–13, 2012.
- DA VEIGA, D. T. A. et al. The yerba mate intake has a neutral effect on bone: A case-control study in postmenopausal women. *Phytother Res*, v. 32, n. 1, p. 58–64, 2018.
- DE MENESES FUJII, T. M. et al. Yerba mate (*Ilex paraguariensis*) modulates NF-kappaB pathway and AKT expression in the liver of rats fed on a high-fat diet. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, v. 65, n. 8, p. 967–976, 2014.
- DE MORAIS, E. C. et al. Consumption of yerba mate (*ilexparaguariensis*) improves serum lipid parameters in healthy dyslipidemic subjects and provides an additional LDL-cholesterol reduction in individuals on statin therapy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 57, n. 18, p. 8316–8324, 23 set. 2009.
- DE OLIVEIRA, D. M. et al. Bioavailability of chlorogenic acids in rats after acute ingestion of maté tea (*Ilex paraguariensis*) or 5-caffeoylquinic acid. *European journal of nutrition*, v. 56, n. 8, p. 2541–2556, 1 dez. 2017.
- DIMITRI, P. et al. Obesity is a risk factor for fracture in children but is protective against fracture in adults: A paradox. *Bone*, v. 50, n. 2, p. 457–466, 2012.
- E CASSEL, RMF VARGAS, GW BRUN, DE ALMEIDA, L COGOI, G FERRARO, R. F. Supercritical fluid extraction of alkaloids from *Ilex paraguariensis* St. Hil. *Journal of Food Engineering*, v. 100, n. 4, p. 656–661, 2010.
- EL-TERRAS, A. et al. Carbonated soft drinks induce oxidative stress and alter the expression of certain genes in the brains of Wistar rats. *Molecular Medicine Reports*, v. 13, n. 4, p. 3147–3154, 2016.
- FARAG A.I.; AHMAD M. M.; GAMAL H. H. Effect of carbonated soft drinks consumption on the bone of Wistar albino rat: A histomorphometric study. *Journal of American Science*, v. 12, n. 8, 2016.

- FEIJÓ, G. DOS S. et al. Food Selection of Cafeteria Diet Affects Memory Dysfunction Related to Obesity. *Neurochemical Research*, v. 44, n. 8, p. 1869–1877, 2019.
- FERNÁNDEZ-SÁNCHEZ, A. et al. Inflammation, oxidative stress, and obesity. *Int J Mol Sci*, v. 12, n. 5, p. 3117–3132, 2011.
- FERRETTI, F.; MARIANI, M. Sugar-sweetened beverage affordability and the prevalence of overweight and obesity in a cross section of countries. *Globalization and Health*, v. 15, n. 1, p. 1–14, 2019.
- FLOHÉ, L.; GÜNZLER, W. A. Assays of glutathione peroxidase. *Methods Enzymol*, v. 105, p. 114–121, 1984.
- GAMBERO, A.; RIBEIRO, M. L. The positive effects of yerba mate (*Ilex paraguariensis*) in obesity. *Nutrients*, v. 7, n. 2, p. 730–50, 2015.
- GAMBOA-GÓMEZ, C. I. et al. EXCLI-14-809.pdf. p. 809–831, 2015.
- GAO H, LIU Z, QU X, Z. Y. et al. Effects of Yerba Mate tea (*Ilex paraguariensis*) on vascular endothelial function and liver lipoprotein receptor gene expression in hyperlipidemic rats. *Fitoterapia*, v. 84, n. 1, p. 264–272, 2013.
- GARCÍA-CONTRERAS, F. et al. Cola beverage consumption induces bone mineralization reduction in ovariectomized rats. *Archives of Medical Research*, v. 31, n. 4, p. 360–365, 2000.
- GORYAKIN, Y.; MONSIVAIS, P.; SUHRCKE, M. Soft drink prices, sales, body mass index and diabetes: Evidence from a panel of low-, middle- and high-income countries. *Food Policy*, v. 73, p. 88–94, 2017.
- GREENWOOD, D. C. et al. Association between sugar-sweetened and artificially sweetened soft drinks and type 2 diabetes: Systematic review and dose-response meta-analysis of prospective studies. *British Journal of Nutrition*, 2014.
- HECK, C. I.; DE MEJIA, E. G. Yerba mate tea (*Ilex paraguariensis*): A comprehensive review on chemistry, health implications, and technological considerations *Journal of Food Science*, 2007.
- HUSSEIN, G. M. et al. Mate tea (*Ilex paraguariensis*) promotes satiety and body weight lowering in mice: involvement of glucagon-like peptide-1. *Biol Pharm Bull*, v. 34, n. 12, p. 1849–1855, 2011a.
- HUSSEIN, G. M. E. et al. Protective and ameliorative effects of maté (*Ilex paraguariensis*) on metabolic syndrome in TSOD mice. *Phytomedicine*, v. 19, n. 1, p. 88–97, 2011b.

- IMESSAOUDENE, A. et al. Beneficial effects of quercetin-iron complexes on serum and tissue lipids and redox status in obese rats. *Journal of Nutritional Biochemistry*, v. 29, p. 107–115, 2016.
- ISHIOKA, K. et al. Experimental and clinical studies on plasma leptin in obese dogs. *Journal of Veterinary Medical Science*, v. 64, n. 4, p. 349–53, 2002.
- IZADI, V.; FARABAD, E.; AZADBAKHT, L. Epidemiologic evidence on serum adiponectin level and lipid profile *International Journal of Preventive Medicine*, 2013.
- JADAD, A. R. et al. Assessing the quality of reports of randomized clinical trials: Is blinding necessary? *Controlled Clinical Trials*, v. 17, n. 1, p. 1–12, 1996.
- JIANG, Y. et al. Resveratrol promotes osteogenesis via activating SIRT1/FoxO1 pathway in osteoporosis mice. *Life Sciences*, v. 246, n. 14, p. 117422, 2020.
- JOO, H. et al. Anti-obesity effects of hot water extract and high hydrostatic pressure extract of garlic in rats fed a high-fat diet. *Food Chem Toxicol*, v. 55, p. 100–5, 2013.
- KANG, Y. R. et al. Anti-obesity and anti-diabetic effects of Yerba Mate (*Ilex paraguariensis*) in C57BL/6J mice fed a high-fat diet. *Lab Anim Res*, v. 28, n. 1, p. 23–29, 2012.
- KUO, T. R.; CHEN, C. H. Bone biomarker for the clinical assessment of osteoporosis: Recent developments and future perspectives. *Biomarker Research*, v. 5, n. 1, p. 5–13, 2017.
- KWAK, S. C. et al. Chlorogenic acid inhibits osteoclast differentiation and bone resorption by down-regulation of receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand-induced nuclear factor of activated T cells c1 expression. *Biol Pharm Bull*, v. 36, n. 11, p. 1779–1786, 2013.
- LASKER, S. et al. High-fat diet-induced metabolic syndrome and oxidative stress in obese rats are ameliorated by yogurt supplementation. *Scientific Reports*, v. 9, n. 1, p. 1–15, 2019.
- LAVET, C. et al. Fat and Sucrose Intake Induces Obesity-Related Bone Metabolism Disturbances: Kinetic and Reversibility Studies in Growing and Adult Rats. *Journal of Bone and Mineral Research*, v. 31, n. 1, p. 98–115, 2016.
- LEBDA, M. A.; TOHAMY, H. G.; EL-SAYED, Y. S. Long-term soft drink and aspartame intake induces hepatic damage via dysregulation of adipocytokines and alteration of the lipid profile and antioxidant status. *Nutrition Research*, v. 41, p. 47–55, 2017.
- LECKA-CZERNIK, B. et al. 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. *Mol Cell Endocrinol*, v. 410, p. 35–41, 2015.

- LIMA, N. D. S. et al. *Ilex paraguariensis* (yerba mate) improves endocrine and metabolic disorders in obese rats primed by early weaning. *European Journal of Nutrition*, v. 53, n. 1, p. 73–82, fev. 2014.
- LIU H, YAO W, ZHANG W, ZHOU J, WU T, H. C. Coffee consumption and risk of fractures: a meta-analysis. *Archives of Medical Science*, v. 8, n. 5, p. 776–783, 2012.
- LIU, Q.; CAO, J.; KONG, J. J. Effects of percutaneous kyphoplasty on bone metabolism and oxidative stress in elderly patients with osteoporotic spinal fractures. *Journal of the College of Physicians and Surgeons Pakistan*, v. 29, n. 1, p. 37–40, 2019.
- LIU, R. H. et al. Effects of the combined extracts of *Herba Epimedii* and *Fructus Ligustri Lucidi* on bone mineral content and bone turnover in osteoporotic rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, v. 15, n. 1, p. 1–8, 2015.
- LÓPEZ-JARAMILLO, P. et al. The role of leptin/adiponectin ratio in metabolic syndrome and diabetes. *Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation*, v. 18, n. 1, p. 37–45, 2014.
- MACEDO, I. C. et al. Cafeteria diet-induced obesity plus chronic stress alter serum leptin levels. *Peptides*, v. 38, n. 1, p. 189–196, 2012.
- MALONE, M.; TSAI, G. The evidence for herbal and botanical remedies, Part 1. *J Fam Pract*, v. 67, n. 1, p. 10–16, 2018.
- MANGANIO, K. M. et al. Dietary acid load is associated with lower bone mineral density in men with low intake of dietary calcium. *Journal of Bone and Mineral Research*, v. 29, n. 2, p. 500–506, 2014.
- MARKLUND, S.; MARKLUND, G. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem*, v. 47, n. 3, p. 469–474, 1974.
- MATSUMOTO, R. L. T. T. et al. Effects of mate tea (*Ilex paraguariensis*) ingestion on mRNA expression of antioxidant enzymes, lipid peroxidation, and total antioxidant status in healthy young women. *Journal of agricultural and food chemistry*, v. 57, n. 5, p. 1775–80, 11 mar. 2009.
- MINEMATSU, A.; NISHII, Y.; SAKATA, S. High-fat/high-sucrose diet results in higher bone mass in aged rats. *Bone Reports*, v. 8, n. June 2017, p. 18–24, 2018.
- MOHER, D. et al. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: The PRISMA statement. *PLoS Medicine*, v. 6, n. 7, 2009.
- MOLINA, N.; BOLIN, A. P.; OTTON, R. Green tea polyphenols change the profile of inflammatory cytokine release from lymphocytes of obese and lean rats and protect against oxidative damage. *International Immunopharmacology*, v. 28, n. 2, p. 985–996, 2015.

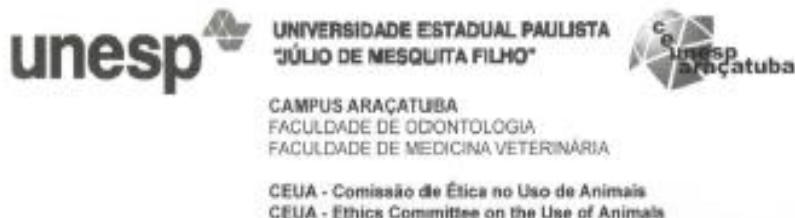
- NABAVI, S. F. et al. Role of quercetin as an alternative for obesity treatment: You are what you eat! *Food Chemistry*, v. 179, p. 305–10, 2015.
- NAVARRO, M. E. L. et al. Renal inflammatory and oxidative and metabolic changes after 6 weeks of cafeteria diet in rats. *Jornal brasileiro de nefrologia: 'orgao oficial de Sociedades Brasileira e Latino-Americana de Nefrologia*, v. 38, n. 1, p. 9–14, 2016.
- OGUR, R. et al. Evaluation of the effect of cola drinks on bone mineral density and associated factors. *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology*, v. 100, n. 5, p. 334–338, 2007.
- OTERO-LOSADA, M. et al. Exercise ameliorates endocrine pancreas damage induced by chronic cola drinking in rats. *PLoS ONE*, v. 11, n. 5, p. 1–14, 2016.
- PAGANINI STEIN, F. L. et al. Vascular responses to extractable fractions of *Ilex paraguariensis* in rats fed standard and high-cholesterol diets. *Biol Res Nurs*, v. 7, n. 2, p. 146–156, 2005.
- PALDÁNIUS, P. M. et al. The effect of oral glucose tolerance test on serum osteocalcin and bone turnover markers in young adults. *Calcified Tissue International*, v. 90, n. 2, p. 90–5, 2012.
- PANG J, CHOI Y, P. T. et al. *Ilex paraguariensis* extract ameliorates obesity induced by high-fat diet: Potential role of AMPK in the visceral adipose tissue. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, v. 476, n. 2008, p. 178–185, 2008.
- PANG J, CHOI Y, P. T. *Ilex paraguariensis* extract ameliorates obesity induced by high-fat diet: Potential role of AMPK in the visceral adipose tissue. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, v. 476, n. 2008, p. 178–185, 2008.
- PEREIRA, A. A. F. et al. *Ilex paraguariensis* supplementation may be an effective nutritional approach to modulate oxidative stress during perimenopause. *Exp Gerontol*, v. 90, p. 14–18, 1 abr. 2017a.
- PEREIRA, C. S. et al. *Ilex Paraguariensis* Decreases Oxidative Stress in Bone and Mitigates the Damage in Rats During Perimenopause. *Experimental Gerontology*, v. 98, n. 2016, p. 148–152, 2017b.
- PHILLIPS B, BALL C, SACKETT D, BADENOCH D, S. S.; HAYNES B, D. M. Evidence-based medicine levels of evidence. Oxford Centre for Evidence-Based Medicine, 2001.
- PIMENTEL, G. D. et al. Yerba mate extract (*Ilex paraguariensis*) attenuates both central and peripheral inflammatory effects of diet-induced obesity in rats. *J Nutr Biochem*, v. 24, n. 5, p. 809–818, 2013.
- QIN, D. et al. Anti-osteoporosis effects of osteoking via reducing reactive oxygen species. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 244, n. June, p. 112045, 2019.

- RAPURI, P. B. et al. Caffeine intake increases the rate of bone loss in elderly women and interacts with vitamin D receptor genotypes. *American Journal of Clinical Nutrition*, v. 74, n. 5, p. 694–700, 2001.
- RAZNY, U. et al. Relation of the protein glycation, oxidation and nitration to the osteocalcin level in obese subjects. *Acta Biochimica Polonica*, v. 64, n. 3, p. 415–422, 2017.
- REID, I. R. Fat and bone. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, v. 503, n. 1, p. 20–27, 2010.
- ROCHA, A. et al. Green tea extract activates AMPK and ameliorates white adipose tissue metabolic dysfunction induced by obesity. *European Journal of Nutrition*, v. 55, n. 7, p. 2231–2244, 2016.
- RODRIGUES, L. et al. Effects of high fat diet on salivary alpha-amylase, serum parameters and food consumption in rats. *Archives of oral biology*, v. 60, n. 6, p. 854–62, 2015.
- RYO, M. et al. Adiponectin as a biomarker of the metabolic syndrome. *Circulation Journal*, 2004.
- SAGAE, S. C. et al. Metabolic dysfunction in a rat model of early-life scarcity–adversity: Modulatory role of cafeteria diet. *Experimental Physiology*, v. 103, n. 11, p. 1481–1493, 2018.
- SAMPEY, B. P. et al. Cafeteria diet is a robust model of human metabolic syndrome with liver and adipose inflammation: Comparison to high-fat diet. *Obesity*, v. 19, n. 6, p. 1109–1117, 2011.
- SCIALLA, J. J.; ANDERSON, C. A. M. Dietary Acid Load: A Novel Nutritional Target in Chronic Kidney Disease? *Advances in Chronic Kidney Disease*, v. 20, n. 2, p. 141–9, 2013.
- SHEN, C. L. et al. Green tea polyphenols mitigate bone loss of female rats in a chronic inflammation-induced bone loss model. *Journal of Nutritional Biochemistry*, v. 21, n. 10, p. 968–974, 2010.
- SHEN, C. L. et al. Green tea and bone health: Evidence from laboratory studies. *Pharmacol Res*, v. 64, n. 2, p. 155–161, 2011.
- SHEN, C. L. et al. Green tea polyphenols benefits body composition and improves bone quality in long-term high-fat diet-induced obese rats. *Nutrition Research*, v. 32, n. 6, p. 448–457, 2012.
- SHEN, C. L. et al. 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, n. 12, p. 1095–1105, 2015.
- SONG, D. et al. Cistanche deserticola polysaccharide attenuates osteoclastogenesis and bone resorption via inhibiting RANKL signaling and reactive oxygen species production. *Journal of Cellular Physiology*, v. 233, n. 12, p. 9674–9684, 1 dez. 2018.



- STEYER, T. E.; ABLES, A. Complementary and Alternative Therapies for Weight Loss. Primary Care - Clinics in Office Practice, v. 36, n. 2, p. 395–406, 2009.
- STRINGHETTA-GARCIA, C. T. et al. Effects of strength training and raloxifene on femoral neck metabolism and microarchitecture of aging female Wistar rats. Scientific Reports, v. 7, n. 1, 1 dez. 2017.
- TAGA, M. S.; MILLER, E. E.; PRATT, D. E. Chia seeds as a source of natural lipid antioxidants. Am Oil Chem Soc, v. 61, p. 928–931, 1984.
- TEÓFILO, J. M.; LEONEL, D. V.; LAMANO, T. Cola beverage consumption delays alveolar bone healing: a histometric study in rats. Brazilian Oral Research, v. 24, n. 2, p. 177–181, 2010.
- TRUNOVA, V. A. et al. Content of bioelements in the lungs and liver in rats with alimentary obesity. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, v. 33, p. 95–9, 2016.
- TÜKEL, H. C.; DELILBAŞI, E. Effects of metabolic syndrome on jawbones and bone metabolic markers in sucrose-fed rats. Odontology, v. 107, n. 4, p. 457–464, 2019.
- TVARIJONAVICIUTE, A.; MARTÍNEZ-SUBIELA, S.; CERON, J. J. Validation of 2 commercially available enzyme-linked immunosorbent assays for adiponectin determination in canine serum samples. Canadian Journal of Veterinary Research, v. 74, n. 4, p. 279–85, 2010.
- UPADHYAY, J.; FARR, O. M.; MANTZOROS, C. S. The role of leptin in regulating bone metabolism. *Metabolism: Clinical and Experimental*, 2015.
- WONG, S. K. et al. Exploring the potential of tocotrienol from *Bixa orellana* as a single agent targeting metabolic syndrome and bone loss. Bone, v. 116, p. 8–21, 2018.
- YILDIRIM, M. et al. Yıldırım et al., 2020.pdf. Cells Tissues Organs, v. 209, n. 1, p. 64–74, 2020.
- ZHAO, F. et al. Pomegranate extract and exercise provide additive benefits on improvement of immune function by inhibiting inflammation and oxidative stress in high-fat-diet-induced obesity rats. Journal of Nutritional Biochemistry, v. 32, p. 20–28, 2016.
- ZHAO, L.-J. et al. Correlation of obesity and osteoporosis: effect of fat mass on the determination of osteoporosis. J Bone Miner Res, v. 23, n. 1, p. 17–29, 2008.
- ZHU, M. et al. Vinpocetine inhibits RANKL-induced osteoclastogenesis and attenuates ovariectomy-induced bone loss. Biomedicine and Pharmacotherapy, v. 123, n. October 2019, p. 109769, 2020.

## ANEXO A - COMITÊ DE ÉTICA



### CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto de Pesquisa intitulado "Eficácia do chá mate (*Ilex paraguariensis*) descafeinado no controle de estresse oxidativo, obesidade e lesão óssea em ratos Wistar". Processo FOA nº 00545-2017, sob responsabilidade de Paulo Cesar Ciarlini apresenta um protocolo experimental de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal e sua execução foi aprovada pela CEUA em 05 de Julho de 2017.

VALIDADE DESTE CERTIFICADO: 31 de Dezembro de 2019.

DATA DA SUBMISSÃO DO RELATÓRIO FINAL: até 31 de Janeiro de 2020.

### CERTIFICATE

We certify that the study entitled "Efficacy of decaffeinated tea (*Ilex paraguariensis*) in the control of oxidative stress, obesity and bone lesion in Wistar rats", Protocol FOA nº 00545-2017, under the supervision of Paulo Cesar Ciarlini presents an experimental protocol in accordance with the Ethical Principles of Animal Experimentation and its implementation was approved by CEUA on July 05, 2017.

VALIDITY OF THIS CERTIFICATE: December 31, 2019.

DATE OF SUBMISSION OF THE FINAL REPORT: January 31, 2020.

Prof. Ass. Dr. Leonardo Perez Faverani  
Coordenador da CEUA  
CEUA Coordinator

## ANEXO B - NORMA DE PUBLICAÇÃO DA REVISTA



### BONE

Cell Molecular Biology; Pathophysiology; Treatment

#### AUTHOR INFORMATION PACK

#### TABLE OF CONTENTS

●	<b>Description</b>	<b>p.1</b>
●	<b>Audience</b>	<b>p.1</b>
●	<b>Impact Factor</b>	<b>p.1</b>
●	<b>Abstracting and Indexing</b>	<b>p.1</b>
●	<b>Editorial Board</b>	<b>p.2</b>
●	<b>Guide for Authors</b>	<b>p.4</b>



ISSN: 8756-3282

#### DESCRIPTION

*BONE* is an interdisciplinary forum for the rapid publication of original articles and reviews on basic, translational, and clinical aspects of bone and mineral metabolism. The Journal also encourages submissions related to interactions of bone with other organ systems, including cartilage, endocrine, muscle, fat, neural, vascular, gastrointestinal, hematopoietic, and immune systems. Particular attention is placed on the application of experimental studies to clinical practice.

#### US National Institutes of Health (NIH) voluntary posting ("Public Access") policy

*BONE* and Elsevier facilitate the author's response to the NIH Public Access Policy. For more details please see the [Guide for authors](#)

#### AUDIENCE

Bone Specialists, Orthopedists, Oncologists, Radiologists, Endocrinologists, Gynecologists, Rheumatologists, Cell and Molecular Biologists

#### IMPACT FACTOR

2018: 4.360 © Clarivate Analytics Journal Citation Reports 2019

#### ABSTRACTING AND INDEXING

Current Contents  
Elsevier BIOBASE  
BIOSIS Citation Index  
PubMed/Medline  
Embase  
Pascal Francis  
Reference Update  
Bioengineering Abstracts

## EDITORIAL BOARD

---

### *Editor-in-Chief*

**Sundeeep Khosla**, Mayo Clinic College of Medicine and Science, Rochester, Minnesota, United States

### *Senior Editors*

**R. Eastell**, Northern General Hospital, Sheffield, South Yorkshire, England  
**N. Guañabens**, University of Barcelona, Barcelona, Spain  
**M.L. Johnson**, University of Missouri Kansas City, Kansas City, Missouri, United States  
**S. Tanaka**, The University of Tokyo, Tokyo, Japan

### *Editors*

**M. Amling**, University of Hamburg Faculty of Medicine, Hamburg, Germany  
**J.E. Aubin**, University of Toronto, Toronto, Ontario, Canada  
**R.D. Blank**, Medical College of Wisconsin, Milwaukee, Wisconsin, United States  
**S. Boyd**, University of Calgary, Calgary, Alberta, Canada  
**D. Burr**, Indiana University School of Medicine, Indianapolis, Indiana, United States  
**J.A. Cauley**, University of Pittsburgh, Pittsburgh, Pennsylvania, United States  
**M.T. Drake**, Mayo Clinic Rochester, Rochester, Minnesota, United States  
**H. Drissi**, Emory University School of Medicine, Atlanta, Georgia, United States  
**C.M. Edwards**, Botnar Research Centre, Oxford, United Kingdom  
**C.M. Gordon**, Boston Children's Hospital and Harvard Medical School, Boston, Massachusetts, United States  
**M. Kassem**, Odense University Hospital Department of Endocrinology, Odense C, Denmark  
**R. O'Keefe**, Washington University in Saint Louis School of Medicine, Saint Louis, Missouri, United States  
**L.I. Plotkin**, Indiana University School of Medicine, Indianapolis, Indiana, United States  
**M.D. Walker**, New York-Presbyterian Columbia University, Department of Medicine/Division of Endocrinology, New York, New York, United States  
**J. Walsh**, The University of Sheffield, Sheffield, United Kingdom

### *Editorial Board*

**M.R. Allen**, Indianapolis, Indiana, United States  
**T. Alliston**, San Francisco, California, United States  
**N. Amizuka**, Sapporo, Japan  
**M. Ascenzi**, Los Angeles, California, United States  
**T. Bellido**, Indianapolis, Indiana, United States  
**H. Bone III**, Grosse Pointe, Michigan, United States  
**L.F. Bonewald**, Indianapolis, Indiana, United States  
**R. Bouillon**, Leuven, Belgium  
**M. Bouxsein**, Boston, Massachusetts, United States  
**R. Chapurlat**, Lyon, France  
**M. Cooper**, Sydney, New South Wales, Australia  
**B. Dawson-Hughes**, Boston, Massachusetts, United States  
**A. Diez-Perez**, Barcelona, Spain  
**G. Duque**, St Albans, Victoria, Australia  
**F. Elefteriou**, Houston, Texas, United States  
**K. Engelke**, Erlangen, Germany  
**M.R. Forwood**, Gold Coast, Queensland, Australia  
**J. Fowlkes**, Lexington, Kentucky, United States  
**S. Fukumoto**, Tokyo, Japan  
**M. Garcia-Aznar**, Zaragoza, Spain  
**P. Garnero**, Gajjac, France  
**J.A. Gasser**, Basel, Switzerland  
**L. Gerstenfeld**  
**M. Gillespie**, Clayton, Victoria, Australia  
**C.M. Girgis**, Sydney, New South Wales, Australia  
**N.J. Gittoes**, Birmingham, United Kingdom  
**M. Grynpas**, Toronto, Ontario, Canada  
**H. Hagino**, Tottori, Japan  
**N. Harvey**, Southampton, United Kingdom  
**E.A. Imel**, Indianapolis, Indiana, United States  
**D. Inoue**, Chiba, Japan  
**R. Jilka**, Little Rock, Arkansas, United States  
**D. Karasik**, Boston, Massachusetts, United States  
**T. Keaveny**, Berkeley, California, United States  
**D.B. Kimmel**, The Villages, Florida, United States  
**T. Komori**, Nagasaki, Japan  
**J.M. Lane**, New York, New York, United States

**B. Lanske**, Waltham, Massachusetts, United States  
**G. Li**, Shatin, N.T, Hong Kong  
**J. Lian**, Worcester, Massachusetts, United States  
**J. Lorenzo**, Farmington, Connecticut, United States  
**S.C. Manolagas**, Little Rock, Arkansas, United States  
**D. Mellstrom**, Göteborg, Sweden  
**R.J. Midura**, Cleveland, Ohio, United States  
**S. Mohan**, Loma Linda, California, United States  
**N. Napoli**, Saint Louis, Missouri, United States  
**J. Nyman**, Nashville, Tennessee, United States  
**C. O'Brien**  
**R. Okazaki**  
**E. Orwoll**, Portland, Oregon, United States  
**E.P. Paschalis**, Wien, Austria  
**P. Peris**, Barcelona, Spain  
**J.M. Pettifor**, Johannesburg, South Africa  
**R.J. Pignolo**, Rochester, Minnesota, United States  
**J. Quinn**, Sydney, Australia  
**F. Rauch**, Montréal, Quebec, Canada  
**Y. Rhee**, Seoul, Korea, Republic of  
**A. Robling**  
**M.J. Rogers**, Sydney, New South Wales, Australia  
**C. Roux**, Paris, France  
**K.G. Saag**, Birmingham, Alabama, United States  
**M. Schaffler**, New York, New York, United States  
**E. Schipani**, Ann Arbor, Michigan, United States  
**S.J. Shefelbine**, Boston, Massachusetts, United States  
**D. Shoback**, San Francisco, California, United States  
**M.J. Silva**, Saint Louis, Missouri, United States  
**R. St. Arnaud**, Montréal, Quebec, Canada **G.S.**  
**Stein**, Burlington, Vermont, United States  
**P. Szulc**, Lyon, France  
**N. Takahashi**, Nagano, Japan  
**Y. Takeuchi**, Tokyo, Japan  
**A. Teti**, L'Aquila, Italy  
**Y. Ueki**, Indianapolis, Indiana, United States  
**W. Van Hul**, Antwerpen, Belgium  
**C. Van Poznak**, Ann Arbor, Michigan, United States  
**D. Vashishth**, Troy, New York, United States **J.M.**  
**Wallace**, Indianapolis, Indiana, United States  
**L. Ward**, Ottawa, Ontario, Canada  
**S. Warden**, Indianapolis, Indiana, United States  
**M. Warman**, Boston, Massachusetts, United States  
**R.S. Weinstein**, Little Rock, Arkansas, United States  
**J.J. Westendorf**, Rochester, Minnesota, United States  
**M. Whyte**, Saint Louis, Missouri, United States  
**J. Wysolmerski**, New Haven, Connecticut, United States  
**W. Xia**, Beijing, China  
**L. Yang**, Xian, China  
**Y.N. Yeni**, Detroit, Michigan, United States  
**T. Yoneda**, Suita, Japan  
**E.W. Yu**, Boston, Massachusetts, United States  
**L.-Q. Yuan**, Changsha, Hunan, China  
**R. Zebaze**, Melbourne, Australia  
**W. Zou**, Shanghai, China

**Founder and Editor Emeritus**

**R. Baron**, Harvard Medical School, Boston, Massachusetts, United States

## GUIDE FOR AUTHORS

---

### *Your Paper Your Way*

We now differentiate between the requirements for new and revised submissions. You may choose to submit your manuscript as a single Word or PDF file to be used in the refereeing process. Only when your paper is at the revision stage, will you be requested to put your paper in to a 'correct format' for acceptance and provide the items required for the publication of your article.

**To find out more, please visit the Preparation section below.**

#### *Types of article*

Types of articles Bone accepts include:

- 1) Memoriam
- 2) Editorial or Commentary
- 3) Review
- 4) Original Articles
- 5) Rapid Communication
- 6) Case Report
- 7) Technical Note
- 8) Letters and Response to Letter to the Editor
- 9) Erratum/Corrigendum
- 10) Announcements

There are no length or format requirements other than those already shown on the GFA under Article Structure.

### *Submission checklist*

You can use this list to carry out a final check of your submission before you send it to the journal for review. Please check the relevant section in this Guide for Authors for more details.

#### **Ensure that the following items are present:**

One author has been designated as the corresponding author with contact details:

- E-mail address
- Full postal address

All necessary files have been uploaded:

#### *Manuscript:*

- Include keywords
- All figures (include relevant captions)
- All tables (including titles, description, footnotes)
- Ensure all figure and table citations in the text match the files provided
- Indicate clearly if color should be used for any figures in print *Graphical Abstracts / Highlights files* (where applicable)
- Supplemental files* (where applicable)

Further considerations

- Manuscript has been 'spell checked' and 'grammar checked'
- All references mentioned in the Reference List are cited in the text, and vice versa
- Permission has been obtained for use of copyrighted material from other sources (including the Internet)
- A competing interests statement is provided, even if the authors have no competing interests to declare
- Journal policies detailed in this guide have been reviewed
- Referee suggestions and contact details provided, based on journal requirements

For further information, visit our [Support Center](#).

## **BEFORE YOU BEGIN**

### *Ethics in publishing*

Please see our information pages on [Ethics in publishing](#) and [Ethical guidelines for journal publication](#).

### **Studies in humans and animals**

If the work involves the use of human subjects, the author should ensure that the work described has been carried out in accordance with [The Code of Ethics of the World Medical Association](#) (Declaration of Helsinki) for experiments involving humans. The manuscript should be in line with the [Recommendations for the Conduct, Reporting, Editing and Publication of Scholarly Work in Medical Journals](#) and aim for the inclusion of representative human populations (sex, age and ethnicity) as per those recommendations. The terms [sex and gender](#) should be used correctly.

Authors should include a statement in the manuscript that informed consent was obtained for experimentation with human subjects. The privacy rights of human subjects must always be observed.

All animal experiments should comply with the [ARRIVE guidelines](#) and should be carried out in accordance with the U.K. Animals (Scientific Procedures) Act, 1986 and associated guidelines, [EU Directive 2010/63/EU for animal experiments](#), or the National Institutes of Health guide for the care and use of Laboratory animals (NIH Publications No. 8023, revised 1978) and the authors should clearly indicate in the manuscript that such guidelines have been followed. The sex of animals must be indicated, and where appropriate, the influence (or association) of sex on the results of the study.

### **Declaration of interest**

All authors must disclose any financial and personal relationships with other people or organizations that could inappropriately influence (bias) their work. Examples of potential competing interests include employment, consultancies, stock ownership, honoraria, paid expert testimony, patent applications/registrations, and grants or other funding. Authors must disclose any interests in two places: 1. A summary declaration of interest statement in the title page file (if double-blind) or the manuscript file (if single-blind). If there are no interests to declare then please state this: 'Declarations of interest: none'. This summary statement will be ultimately published if the article is accepted.

2. Detailed disclosures as part of a separate Declaration of Interest form, which forms part of the journal's official records. It is important for potential interests to be declared in both places and that the information matches. [More information](#).

### **Submission declaration and verification**

Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract, a published lecture or academic thesis, see '[Multiple, redundant or concurrent publication](#)' for more information), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, including electronically without the written consent of the copyright-holder. To verify originality, your article may be checked by the originality detection service [Crossref Similarity Check](#).

### **Preprints**

Please note that [preprints](#) can be shared anywhere at any time, in line with Elsevier's [sharing policy](#). Sharing your preprints e.g. on a preprint server will not count as prior publication (see '[Multiple, redundant or concurrent publication](#)' for more information).

### **Use of inclusive language**

Inclusive language acknowledges diversity, conveys respect to all people, is sensitive to differences, and promotes equal opportunities. Articles should make no assumptions about the beliefs or commitments of any reader, should contain nothing which might imply that one individual is superior to another on the grounds of race, sex, culture or any other characteristic, and should use inclusive language throughout. Authors should ensure that writing is free from bias, for instance by using 'he or she', 'his/her' instead of 'he' or 'his', and by making use of job titles that are free of stereotyping (e.g. 'chairperson' instead of 'chairman' and 'flight attendant' instead of 'stewardess').

### **Author contributions**

For transparency, we encourage authors to submit an author statement file outlining their individual contributions to the paper using the relevant CRediT roles: Conceptualization; Data curation; Formal analysis; Funding acquisition; Investigation; Methodology; Project administration; Resources; Software; Supervision; Validation; Visualization; Roles/Writing - original draft; Writing - review & editing. Authorship statements should be formatted with the names of authors first and CRediT role(s) following. [More details and an example](#)

### Authorship

All authors should have made substantial contributions to all of the following: (1) the conception and design of the study, or acquisition of data, or analysis and interpretation of data, (2) drafting the article or revising it critically for important intellectual content, (3) final approval of the version to be submitted.

### Changes to authorship

Authors are expected to consider carefully the list and order of authors **before** submitting their manuscript and provide the definitive list of authors at the time of the original submission. Any addition, deletion or rearrangement of author names in the authorship list should be made only **before** the manuscript has been accepted and only if approved by the journal Editor. To request such a change, the Editor must receive the following from the **corresponding author**: (a) the reason for the change in author list and (b) written confirmation (e-mail, letter) from all authors that they agree with the addition, removal or rearrangement. In the case of addition or removal of authors, this includes confirmation from the author being added or removed.

Only in exceptional circumstances will the Editor consider the addition, deletion or rearrangement of authors **after** the manuscript has been accepted. While the Editor considers the request, publication of the manuscript will be suspended. If the manuscript has already been published in an online issue, any requests approved by the Editor will result in a corrigendum.

### Article transfer service

This journal is part of our Article Transfer Service. This means that if the Editor feels your article is more suitable in one of our other participating journals, then you may be asked to consider transferring the article to one of those. If you agree, your article will be transferred automatically on your behalf with no need to reformat. Please note that your article will be reviewed again by the new journal. [More information](#).

### Copyright

Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'Journal Publishing Agreement' (see [more information](#) on this). An e-mail will be sent to the corresponding author confirming receipt of the manuscript together with a 'Journal Publishing Agreement' form or a link to the online version of this agreement.

Subscribers may reproduce tables of contents or prepare lists of articles including abstracts for internal circulation within their institutions. [Permission](#) of the Publisher is required for resale or distribution outside the institution and for all other derivative works, including compilations and translations. If excerpts from other copyrighted works are included, the author(s) must obtain written permission from the copyright owners and credit the source(s) in the article. Elsevier has [preprinted forms](#) for use by authors in these cases.

For gold open access articles: Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete an 'Exclusive License Agreement' ([more information](#)). Permitted third party reuse of gold open access articles is determined by the author's choice of [user license](#).

### Author rights

As an author you (or your employer or institution) have certain rights to reuse your work. [More information](#).

### Elsevier supports responsible sharing

Find out how you can [share your research](#) published in Elsevier journals.

### Role of the funding source

You are requested to identify who provided financial support for the conduct of the research and/or preparation of the article and to briefly describe the role of the sponsor(s), if any, in study design; in the collection, analysis and interpretation of data; in the writing of the report; and in the decision to submit the article for publication. If the funding source(s) had no such involvement then this should be stated.

### Open access

Please visit our [Open Access page](#) for more information.



### *Elsevier Researcher Academy*

[Researcher Academy](#) is a free e-learning platform designed to support early and mid-career researchers throughout their research journey. The "Learn" environment at Researcher Academy offers several interactive modules, webinars, downloadable guides and resources to guide you through the process of writing for research and going through peer review. Feel free to use these free resources to improve your submission and navigate the publication process with ease.

### *Language (usage and editing services)*

Please write your text in good English (American or British usage is accepted, but not a mixture of these). Authors who feel their English language manuscript may require editing to eliminate possible grammatical or spelling errors and to conform to correct scientific English may wish to use the [English Language Editing service](#) available from Elsevier's Author Services.

### **Submission**

Our online submission system guides you stepwise through the process of entering your article details and uploading your files. The system converts your article files to a single PDF file used in the peer-review process. Editable files (e.g., Word, LaTeX) are required to typeset your article for final publication. All correspondence, including notification of the Editor's decision and requests for revision, is sent by e-mail.

### *Referees*

Please submit the names and institutional e-mail addresses of several potential referees. For more details, visit our [Support site](#). Note that the editor retains the sole right to decide whether or not the suggested reviewers are used.

## **PREPARATION**

### **NEW SUBMISSIONS**

Submission to this journal proceeds totally online and you will be guided stepwise through the creation and uploading of your files. The system automatically converts your files to a single PDF file, which is used in the peer-review process.

As part of the Your Paper Your Way service, you may choose to submit your manuscript as a single file to be used in the refereeing process. This can be a PDF file or a Word document, in any format or lay-out that can be used by referees to evaluate your manuscript. It should contain high enough quality figures for refereeing. If you prefer to do so, you may still provide all or some of the source files at the initial submission. Please note that individual figure files larger than 10 MB must be uploaded separately.

### *References*

There are no strict requirements on reference formatting at submission. References can be in any style or format as long as the style is consistent. Where applicable, author(s) name(s), journal title/book title, chapter title/article title, year of publication, volume number/book chapter and the article number or pagination must be present. Use of DOI is highly encouraged. The reference style used by the journal will be applied to the accepted article by Elsevier at the proof stage. Note that missing data will be highlighted at proof stage for the author to correct.

### *Formatting requirements*

There are no strict formatting requirements but all manuscripts must contain the essential elements needed to convey your manuscript, for example Abstract, Keywords, Introduction, Materials and Methods, Results, Conclusions, Artwork and Tables with Captions.

If your article includes any Videos and/or other Supplementary material, this should be included in your initial submission for peer review purposes.

Divide the article into clearly defined sections.

### *Figures and tables embedded in text*

Please ensure the figures and the tables included in the single file are placed next to the relevant text in the manuscript, rather than at the bottom or the top of the file. The corresponding caption should be placed directly below the figure or table.

### **Peer review**

This journal operates a single blind review process. All contributions will be initially assessed by the editor for suitability for the journal. Papers deemed suitable are then typically sent to a minimum of two independent expert reviewers to assess the scientific quality of the paper. The Editor is responsible for the final decision regarding acceptance or rejection of articles. The Editor's decision is final. [More information on types of peer review](#).

## REVISED SUBMISSIONS

### *Use of word processing software*

Regardless of the file format of the original submission, at revision you must provide us with an editable file of the entire article. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts (see also the [Guide to Publishing with Elsevier](#)). See also the section on Electronic artwork.

To avoid unnecessary errors you are strongly advised to use the 'spell-check' and 'grammar-check' functions of your word processor.

### Article structure

#### *Subdivision - numbered sections*

Divide your article into clearly defined and numbered sections. Subsections should be numbered 1.1 (then 1.1.1, 1.1.2, ...), 1.2, etc. (the abstract is not included in section numbering). Use this numbering also for internal cross-referencing: do not just refer to 'the text'. Any subsection may be given a brief heading. Each heading should appear on its own separate line.

#### *Introduction*

State the objectives of the work and provide an adequate background, avoiding a detailed literature survey or a summary of the results.

#### *Material and Methods*

Provide sufficient detail to allow the work to be reproduced. Methods already published should be indicated by a reference: only relevant modifications should be described. Since there are significant differences in skeletal structure and remodeling between the sexes and strains, it is essential that all animal studies report the age, sex, and strain (e.g., C57BL/6) of animals used.

#### *Key Resources Table*

To enable reproducibility of the research, we encourage authors to submit a Key Resources Table, which helps make the resources clear to readers. The Key Resources Table highlights the genetically modified organisms and strains, cell lines, reagents and other resources essential to reproduce the results presented in a paper. More information is available here <https://www.elsevier.com/authors/author-resources/key-resources-table>

#### *Theory/calculation*

A Theory section should extend, not repeat, the background to the article already dealt with in the Introduction and lay the foundation for further work. In contrast, a Calculation section represents a practical development from a theoretical basis.

#### *Results*

Results should be clear and concise.

#### *Discussion*

This should explore the significance of the results of the work, not repeat them. A combined Results and Discussion section is often appropriate. Avoid extensive citations and discussion of published literature.

#### *Conclusions*

The main conclusions of the study may be presented in a short Conclusions section, which may stand alone or form a subsection of a Discussion or Results and Discussion section.

### Essential title page information

- **Title.** Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.
- **Author names and affiliations.** Please clearly indicate the given name(s) and family name(s) of each author and check that all names are accurately spelled. You can add your name between parentheses in your own script behind the English transliteration. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lower-case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author.
- **Corresponding author.** Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. This responsibility includes answering any future queries about Methodology and Materials. **Ensure that the e-mail address is given and that contact details are kept up to date by the corresponding author.**

• **Present/permanent address.** If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

### Highlights

Highlights are optional yet highly encouraged for this journal, as they increase the discoverability of your article via search engines. They consist of a short collection of bullet points that capture the novel results of your research as well as new methods that were used during the study (if any). Please have a look at the examples here: [example Highlights](#).

Highlights should be submitted in a separate editable file in the online submission system. Please use 'Highlights' in the file name and include 3 to 5 bullet points (maximum 85 characters, including spaces, per bullet point).

### Abstract

A concise and factual abstract is required. The abstract should state briefly the purpose of the research, the principal results and major conclusions. An abstract is often presented separately from the article, so it must be able to stand alone. For this reason, References should be avoided, but if essential, then cite the author(s) and year(s). Also, non-standard or uncommon abbreviations should be avoided, but if essential they must be defined at their first mention in the abstract itself.

#### Graphical abstract

Although a graphical abstract is optional, its use is encouraged as it draws more attention to the online article. The graphical abstract should summarize the contents of the article in a concise, pictorial form designed to capture the attention of a wide readership. Graphical abstracts should be submitted as a separate file in the online submission system. Image size: Please provide an image with a minimum of 531 × 1328 pixels (h × w) or proportionally more. The image should be readable at a size of 5 × 13 cm using a regular screen resolution of 96 dpi. Preferred file types: TIFF, EPS, PDF or MS Office files. You can view [Example Graphical Abstracts](#) on our information site.

Authors can make use of Elsevier's [Illustration Services](#) to ensure the best presentation of their images and in accordance with all technical requirements.

### Keywords

Immediately after the abstract, provide a maximum of 6 keywords, using American spelling and avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, 'and', 'of'). Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. These keywords will be used for indexing purposes.

#### Abbreviations

Define abbreviations that are not standard in this field in a footnote to be placed on the first page of the article. Such abbreviations that are unavoidable in the abstract must be defined at their first mention there, as well as in the footnote. Ensure consistency of abbreviations throughout the article.

#### Acknowledgements

Collate acknowledgements in a separate section at the end of the article before the references and do not, therefore, include them on the title page, as a footnote to the title or otherwise. List here those individuals who provided help during the research (e.g., providing language help, writing assistance or proof reading the article, etc.).

#### Formatting of funding sources

List funding sources in this standard way to facilitate compliance to funder's requirements:

Funding: This work was supported by the National Institutes of Health [grant numbers xxxx, yyyy]; the Bill & Melinda Gates Foundation, Seattle, WA [grant number zzzz]; and the United States Institutes of Peace [grant number aaaa].

It is not necessary to include detailed descriptions on the program or type of grants and awards. When funding is from a block grant or other resources available to a university, college, or other research institution, submit the name of the institute or organization that provided the funding.

If no funding has been provided for the research, please include the following sentence:

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

## **Genbank**

### *Footnotes*

Footnotes should be used sparingly. Number them consecutively throughout the article. Many word processors build footnotes into the text, and this feature may be used. Should this not be the case, indicate the position of footnotes in the text and present the footnotes themselves separately at the end of the article.

### *Electronic artwork*

#### *General points*

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
- Preferred fonts: Arial (or Helvetica), Times New Roman (or Times), Symbol, Courier.
- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Indicate per figure if it is a single, 1.5 or 2-column fitting image.
- For Word submissions only, you may still provide figures and their captions, and tables within a single file at the revision stage.
- Please note that individual figure files larger than 10 MB must be provided in separate source files.

A detailed [guide on electronic artwork](#) is available.

**You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.** *Formats*

Regardless of the application used, when your electronic artwork is finalized, please 'save as' or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below):

EPS (or PDF): Vector drawings. Embed the font or save the text as 'graphics'.

TIFF (or JPG): Color or grayscale photographs (halftones): always use a minimum of 300 dpi.

TIFF (or JPG): Bitmapped line drawings: use a minimum of 1000 dpi.

TIFF (or JPG): Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale): a minimum of 500 dpi is required.

#### **Please do not:**

- Supply files that are optimized for screen use (e.g., GIF, BMP, PICT, WPG); the resolution is too low.
- Supply files that are too low in resolution.
- Submit graphics that are disproportionately large for the content.

### *Color artwork*

Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF (or JPEG), EPS (or PDF), or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color online (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are reproduced in color in the printed version. **For color reproduction in print, you will receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article.** Please indicate your preference for color: in print or online only. [Further information on the preparation of electronic artwork.](#)

### *Illustration services*

[Elsevier's Author Services](#) offers Illustration Services to authors preparing to submit a manuscript but concerned about the quality of the images accompanying their article. Elsevier's expert illustrators can produce scientific, technical and medical-style images, as well as a full range of charts, tables and graphs. Image 'polishing' is also available, where our illustrators take your image(s) and improve them to a professional standard. Please visit the website to find out more.

### *Figure captions*

Ensure that each illustration has a caption. A caption should comprise a brief title (**not** on the figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used.

## Tables

Please submit tables as editable text and not as images. Tables can be placed either next to the relevant text in the article, or on separate page(s) at the end. Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text and place any table notes below the table body. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in them do not duplicate results described elsewhere in the article. Please avoid using vertical rules and shading in table cells.

## References

### *Citation in text*

Please ensure that every reference cited in the text is also present in the reference list (and vice versa). Any references cited in the abstract must be given in full. Unpublished results and personal communications are not recommended in the reference list, but may be mentioned in the text. If these references are included in the reference list they should follow the standard reference style of the journal and should include a substitution of the publication date with either 'Unpublished results' or 'Personal communication'. Citation of a reference as 'in press' implies that the item has been accepted for publication.

### *Reference links*

Increased discoverability of research and high quality peer review are ensured by online links to the sources cited. In order to allow us to create links to abstracting and indexing services, such as Scopus, CrossRef and PubMed, please ensure that data provided in the references are correct. Please note that incorrect surnames, journal/book titles, publication year and pagination may prevent link creation. When copying references, please be careful as they may already contain errors. Use of the DOI is highly encouraged.

A DOI is guaranteed never to change, so you can use it as a permanent link to any electronic article. An example of a citation using DOI for an article not yet in an issue is: VanDecar J.C., Russo R.M., James D.E., Ambeh W.B., Franke M. (2003). Aseismic continuation of the Lesser Antilles slab beneath northeastern Venezuela. *Journal of Geophysical Research*, <https://doi.org/10.1029/2001JB000884>. Please note the format of such citations should be in the same style as all other references in the paper.

### *Web references*

As a minimum, the full URL should be given and the date when the reference was last accessed. Any further information, if known (DOI, author names, dates, reference to a source publication, etc.), should also be given. Web references can be listed separately (e.g., after the reference list) under a different heading if desired, or can be included in the reference list.

### *Data references*

This journal encourages you to cite underlying or relevant datasets in your manuscript by citing them in your text and including a data reference in your Reference List. Data references should include the following elements: author name(s), dataset title, data repository, version (where available), year, and global persistent identifier. Add [dataset] immediately before the reference so we can properly identify it as a data reference. The [dataset] identifier will not appear in your published article.

### *References in a special issue*

Please ensure that the words 'this issue' are added to any references in the list (and any citations in the text) to other articles in the same Special Issue.

### *Reference management software*

Most Elsevier journals have their reference template available in many of the most popular reference management software products. These include all products that support [Citation Style Language styles](#), such as [Mendeley](#). Using citation plug-ins from these products, authors only need to select the appropriate journal template when preparing their article, after which citations and bibliographies will be automatically formatted in the journal's style. If no template is yet available for this journal, please follow the format of the sample references and citations as shown in this Guide. If you use reference management software, please ensure that you remove all field codes before submitting the electronic manuscript. [More information on how to remove field codes from different reference management software](#).

Users of Mendeley Desktop can easily install the reference style for this journal by clicking the following link:

<http://open.mendeley.com/use-citation-style/bone>

When preparing your manuscript, you will then be able to select this style using the Mendeley plug-ins for Microsoft Word or LibreOffice.

### Reference formatting

There are no strict requirements on reference formatting at submission. References can be in any style or format as long as the style is consistent. Where applicable, author(s) name(s), journal title/book title, chapter title/article title, year of publication, volume number/book chapter and the article number or pagination must be present. Use of DOI is highly encouraged. The reference style used by the journal will be applied to the accepted article by Elsevier at the proof stage. Note that missing data will be highlighted at proof stage for the author to correct. If you do wish to format the references yourself they should be arranged according to the following examples:

### Reference style

**Text:** Indicate references by number(s) in square brackets in line with the text. The actual authors can be referred to, but the reference number(s) must always be given.

Example: '..... as demonstrated [3,6]. Barnaby and Jones [8] obtained a different result ....'

**List:** Number the references (numbers in square brackets) in the list in the order in which they appear in the text.

### Examples:

Reference to a journal publication:

[1] J. van der Geer, J.A.J. Hanraads, R.A. Lupton, The art of writing a scientific article, *J. Sci. Commun.* 163 (2010) 51–59. <https://doi.org/10.1016/j.Sc.2010.00372>.

Reference to a journal publication with an article number:

[2] J. van der Geer, J.A.J. Hanraads, R.A. Lupton, 2018. The art of writing a scientific article. *Heliyon.* 19, e00205. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2018.e00205>.

Reference to a book:

[3] W. Strunk Jr., E.B. White, *The Elements of Style*, fourth ed., Longman, New York, 2000. Reference to a chapter in an edited book:

[4] G.R. Mettam, L.B. Adams, How to prepare an electronic version of your article, in: B.S. Jones, R.Z. Smith (Eds.), *Introduction to the Electronic Age*, E-Publishing Inc., New York, 2009, pp. 281–304. Reference to a website:

[5] Cancer Research UK, Cancer statistics reports for the UK. <http://www.cancerresearchuk.org/aboutcancer/statistics/cancerstatsreport/>, 2003 (accessed 13 March 2003).

Reference to a dataset:

[dataset] [6] M. Oguro, S. Imahiro, S. Saito, T. Nakashizuka, Mortality data for Japanese oak wilt disease and surrounding forest compositions, *Mendeley Data*, v1, 2015. <https://doi.org/10.17632/xwj98nb39r.1>.

### Journal abbreviations source

Journal names should be abbreviated according to the [List of Title Word Abbreviations](#).

### Video

Elsevier accepts video material and animation sequences to support and enhance your scientific research. Authors who have video or animation files that they wish to submit with their article are strongly encouraged to include links to these within the body of the article. This can be done in the same way as a figure or table by referring to the video or animation content and noting in the body text where it should be placed. All submitted files should be properly labeled so that they directly relate to the video file's content. In order to ensure that your video or animation material is directly usable, please provide the file in one of our recommended file formats with a preferred maximum size of 150 MB per file, 1 GB in total. Video and animation files supplied will be published online in the electronic version of your article in Elsevier Web products, including [ScienceDirect](#). Please supply 'stills' with your files: you can choose any frame from the video or animation or make a separate image. These will be used instead of standard icons and will personalize the link to your video data. For more detailed instructions please visit our [video instruction pages](#). Note: since video and animation cannot be embedded in the print version of the journal, please provide text for both the electronic and the print version for the portions of the article that refer to this content.

### Supplementary material

Supplementary material such as applications, images and sound clips, can be published with your article to enhance it. Submitted supplementary items are published exactly as they are received (Excel or PowerPoint files will appear as such online). Please submit your material together with the article and supply a concise, descriptive caption for each supplementary file. If you wish to make changes to supplementary material during any stage of the process, please make sure to provide an updated file. Do not annotate any corrections on a previous version. Please switch off the 'Track Changes' option in Microsoft Office files as these will appear in the published version.



### **Research data**

This journal encourages and enables you to share data that supports your research publication where appropriate, and enables you to interlink the data with your published articles. Research data refers to the results of observations or experimentation that validate research findings. To facilitate reproducibility and data reuse, this journal also encourages you to share your software, code, models, algorithms, protocols, methods and other useful materials related to the project.

Below are a number of ways in which you can associate data with your article or make a statement about the availability of your data when submitting your manuscript. If you are sharing data in one of these ways, you are encouraged to cite the data in your manuscript and reference list. Please refer to the "References" section for more information about data citation. For more information on depositing, sharing and using research data and other relevant research materials, visit the [research data](#) page.

#### *Data linking*

If you have made your research data available in a data repository, you can link your article directly to the dataset. Elsevier collaborates with a number of repositories to link articles on ScienceDirect with relevant repositories, giving readers access to underlying data that gives them a better understanding of the research described.

There are different ways to link your datasets to your article. When available, you can directly link your dataset to your article by providing the relevant information in the submission system. For more information, visit the [database linking page](#).

For [supported data repositories](#) a repository banner will automatically appear next to your published article on ScienceDirect.

In addition, you can link to relevant data or entities through identifiers within the text of your manuscript, using the following format: Database: xxxx (e.g., TAIR: AT1G01020; CCDC: 734053; PDB: 1XFN).

#### *Mendeley Data*

This journal supports Mendeley Data, enabling you to deposit any research data (including raw and processed data, video, code, software, algorithms, protocols, and methods) associated with your manuscript in a free-to-use, open access repository. During the submission process, after uploading your manuscript, you will have the opportunity to upload your relevant datasets directly to *Mendeley Data*. The datasets will be listed and directly accessible to readers next to your published article online.

For more information, visit the [Mendeley Data for journals page](#).

#### *Data statement*

To foster transparency, we encourage you to state the availability of your data in your submission. This may be a requirement of your funding body or institution. If your data is unavailable to access or unsuitable to post, you will have the opportunity to indicate why during the submission process, for example by stating that the research data is confidential. The statement will appear with your published article on ScienceDirect. For more information, visit the [Data Statement page](#).

## **AFTER ACCEPTANCE**

### **Online proof correction**

To ensure a fast publication process of the article, we kindly ask authors to provide us with their proof corrections within two days. Corresponding authors will receive an e-mail with a link to our online proofing system, allowing annotation and correction of proofs online. The environment is similar to MS Word: in addition to editing text, you can also comment on figures/tables and answer questions from the Copy Editor. Web-based proofing provides a faster and less error-prone process by allowing you to directly type your corrections, eliminating the potential introduction of errors.

If preferred, you can still choose to annotate and upload your edits on the PDF version. All instructions for proofing will be given in the e-mail we send to authors, including alternative methods to the online version and PDF.

We will do everything possible to get your article published quickly and accurately. Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this

stage with permission from the Editor. It is important to ensure that all corrections are sent back to us in one communication. Please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility.

### **Offprints**

The corresponding author will, at no cost, receive a customized [Share Link](#) providing 50 days free access to the final published version of the article on [ScienceDirect](#). The Share Link can be used for sharing the article via any communication channel, including email and social media. For an extra charge, paper offprints can be ordered via the offprint order form which is sent once the article is accepted for publication. Both corresponding and co-authors may order offprints at any time via Elsevier's [Author Services](#). Corresponding authors who have published their article gold open access do not receive a Share Link as their final published version of the article is available open access on ScienceDirect and can be shared through the article DOI link.

### **AUTHOR INQUIRIES**

Visit the [Elsevier Support Center](#) to find the answers you need. Here you will find everything from Frequently Asked Questions to ways to get in touch.

You can also [check the status of your submitted article](#) or find out [when your accepted article will be published](#).

© Copyright 2018 Elsevier | <https://www.elsevier.com>