

AVALIAÇÃO MORFOMÉTRICA DO TECIDO ÓSSEO DE RATAS OBESAS INDUZIDAS POR DIETA DE CAFETERIA

Gustavo Henrique dos Reis

Biólogo – Laboratório de Biologia Estrutural e Funcional/UNIOESTE-PR
gustah_reis@hotmail.com

Regina Inês Kunz

Mestre em Biociências e Saúde – Laboratório de Biologia Estrutural e Funcional/UNIOESTE-PR
regina_kunz@hotmail.com

Sara Cristina Sagae Schneider

Doutora em Ciências Biológicas (Fisiologia) – Laboratório de Fisiologia Endócrina e Metabolismo/UNIOESTE-PR
sarasagae@gmail.com

Rose Meire Costa Brancalhão

Doutora em Zoologia – Laboratório de Biologia Estrutural e Funcional/UNIOESTE-PR
rosecb@gmail.com

Lucinéia de Fátima Chasko Ribeiro

Doutora em Ciências Biológicas (Biologia Celular e Molecular) – Laboratório de Biologia Estrutural e Funcional/UNIOESTE-PR
lucineia.cr@gmail.com

RESUMO

A preferência da sociedade ocidental por dietas *fast-food*, compostas por alimentos altamente calóricos, pode ser apontada como uma condição causal importante para a obesidade, uma epidemia mundial, e pode ser mimetizada em modelos experimentais por meio da dieta de cafeteria. Objetivou-se analisar o efeito da obesidade induzida pela dieta de cafeteria no tecido ósseo das tíbias de ratas Wistar. As ratas foram divididas em dois grupos: grupo controle (CTL), que recebeu ração padrão e água (N= 8); e grupo tratado (CAF), que recebeu dieta de cafeteria *ad libitum* a partir do 21º dia de vida (N= 8). Aos 100 dias, as ratas foram pesadas e eutanasiadas. As gorduras retroperitoneal e perigonadal foram coletadas e pesadas e, em seguida, as tíbias direitas foram coletadas e submetidas ao processamento histológico para microscopia de luz, com posterior análise de parâmetros morfométricos. Houve um aumento estatisticamente significativo no peso corporal e do acúmulo das gorduras nas ratas do grupo CAF, bem como maior densidade celular e menor espessura do osso cortical nestas ratas em relação ao grupo CTL. Concluiu-se que a ingestão da dieta de cafeteria é capaz de ocasionar diferenças nos parâmetros morfométricos do tecido ósseo de ratas obesas.

Palavras chaves: Tíbia; Obesidade; Morfometria óssea.

ABSTRACT

The preference of Western society by fast-food diets, composed of high-calorie foods, can be identified as an important causal condition for obesity, a global epidemic, and can be simulated in experimental models through the cafeteria diet. This study aimed to analyze the effect of obesity induced by cafeteria diet on bone tibias of Wistar rats. The rats were divided into two groups: control group (CTL), which received standard food and water; and treated group (CAF), which received cafeteria diet *ad libitum* from the 21st day of life.

At 100 days, the rats were weighed and euthanized. The retroperitoneal and perigonadal fats were collected and weighed and then the right tibias were collected and submitted to histological processing for light microscopy, with subsequent analysis of morphometric parameters. There was a statistically significant increase in body weight and fat accumulation in rats of CAF group, as well an increase of cell density and reduced thickness of the cortical bone in these rats compared to the CTL group. It is concluded that the ingestion of cafeteria diet can cause differences in the bone morphometric parameters of obese rats.

Keywords: Tibia; Obesity; Bone morphometry.

1. INTRODUÇÃO

A obesidade é considerada uma doença de origem multifatorial, cuja principal característica é o aumento significativo do tecido adiposo, resultado do desequilíbrio entre consumo alimentar e gasto energético (WHO, 2014). De acordo com Spielgeman e Flier (2001), inúmeros fatores estão envolvidos na etiologia da obesidade, todos podendo levar a um acúmulo energético positivo, influenciados por fatores ambientais, comportamentais, psicológicos, fisiológicos e genéticos. No entanto, os fatores biológicos, somados ao estilo de vida ocidental contemporâneo, caracterizado pela redução da prática da atividade física, incorporação do sedentarismo e alimentação desequilibrada, são algumas das causas mais frequentes da doença (KAC; VELÁSQUEZ-MELÉNDEZ, 2003).

Nos últimos anos devido ao aumento da sua incidência, a obesidade tem sido considerada a mais importante desordem nutricional tanto nos países desenvolvidos como nos em desenvolvimento, sendo que em 2014 aproximadamente 2 bilhões de adultos apresentavam sobrepeso e mais de 500 milhões estavam obesos (WHO, 2014). Já considerada uma epidemia mundial, é também um problema de saúde pública ao gerar custos significativos ao governo (CABALLERO, 2007; LEHNERT et al., 2013). No Brasil, ao longo do quadriênio 2008 e 2011, houve um aumento de mais de 16 milhões de reais no custo total do tratamento da obesidade para o Sistema Único de Saúde (MAZZOCCANTE; MORAES; CAMPBELL, 2012). Em 2014 estimava-se que 18% da população brasileira já se encontrava obesa e que 52,5% dos brasileiros estavam acima do peso, índice que era de 43% em 2006 (BRASIL, 2014).

É relatado que o aumento de peso relacionado à condição de obesidade pode induzir alterações na massa óssea (EL HAGE et al., 2011). O tecido ósseo é um dos mais rígidos do corpo humano, sendo o constituinte principal do esqueleto que apresenta inúmeras funções, como hematopoiética, proteção dos órgãos vitais, fonte de íons, sustentação, além de contribuir com um sistema de alavancas, por proporcionar pontos de inserção aos músculos esqueléticos, transformando suas contrações em movimentos (MOORE et al., 2014). Possui três tipos celulares, osteoblastos, osteoclastos e osteócitos, dispostos entre a matriz óssea intensamente calcificada, o que torna o tecido mais duro e menos flexível que as cartilagens (ANDIA; CERRI; SPOLIDORIO, 2006).

A estrutura óssea é constituída aproximadamente por 70% de minerais, 20% de matriz orgânica e cerca de 10% de água. A matriz orgânica, por sua vez, tem cerca de 90% de sua estrutura formada por colágeno do tipo I, que confere ao osso alguma maleabilidade (RATH et al., 2000). Externamente, o osso contém uma camada de tecido compacto, denominada cortical e, internamente, é formado por uma camada trabecular ou esponjosa (ANDIA; CERRI; SPOLIDORIO, 2006). A quantidade relativa de cada tipo de osso, o número de células, a espessura e orientação das trabéculas dependem das forças as quais o osso está exposto (NORDIN; FRANKEL, 2001). Segundo SHILLS (2009), a densidade óssea pode ser aumentada na condição de obesidade, visto que o desenvolvimento e dinamismo tecidual dos ossos sofre influência direta do aumento do peso, que exige do esqueleto uma tensão maior em determinada região do corpo. Neste sentido, têm sido propostos alguns mecanismos para explicar os efeitos da obesidade na massa óssea, tais como o aumento da carga mecânica sobre o esqueleto e fatores metabólicos, como, por exemplo, a produção de hormônios que estão intimamente associados com o dinamismo do processo de remodelação óssea (ZHAO, 2007). Também, existe uma relação positiva entre a concentração plasmática de insulina e a

densidade mineral óssea (ZHAO, 2008). Como afirma Reid (2008), os osteoblastos apresentam receptor para a insulina que, por sua vez, estimula a diferenciação osteogênica e inibe a osteoclastogênese.

Ainda, o tipo de dieta também é capaz de interferir no metabolismo ósseo. Estudos mostraram que dietas com alto teor de gordura são capazes de interferir negativamente na absorção intestinal de cálcio, levando à diminuição da biodisponibilidade desse elemento no organismo, cujo suprimento adequado é fundamental à formação óssea (NELSON; FRANTZ; ZIEGLER, 1998).

Modelos animais de obesidade são uma alternativa importante no estudo desta condição clínica e seus efeitos sobre outros órgãos e tecidos. Neste sentido, a dieta de cafeteria é um modelo de indução a obesidade que mais se aproxima da gênese da obesidade em humanos (ROSINI; SILVA; MORAES, 2012). Esse tipo de dieta leva a um aumento rápido e significativo do peso, além de causar a resistência à insulina (BERTRAN et al., 2011). Nesse modelo, os animais têm livre acesso a ração padrão e água juntamente com alimentos industrializados altamente palatáveis e calóricos *ad libitum* (SHAFAT et al., 2009; SAMPEY et al., 2011).

Portanto, fica evidente que o estilo de vida, as condições fisiológicas e o tipo de nutrição desempenham um importante papel no desenvolvimento do tecido ósseo. Nesse sentido, o presente estudo tem como objetivo avaliar o efeito da obesidade induzida por dieta de cafeteria sobre parâmetros morfométricos da tíbia de ratas.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Animais e indução da obesidade

Foram utilizadas ratas Wistar obtidas no Biotério Central da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), mantidas no biotério setorial do laboratório de Fisiologia Humana e Biofísica sob condições controladas de luminosidade (luz das 7:00 às 19:00 h) e temperatura ($23\pm 2^{\circ}\text{C}$).

Após o desmame, aos 21 dias de vida até o fim do período experimental (100 dias de idade), as ratas foram separadas em 02 grupos:

- 1) Controle (CTL), que recebeu ração padrão (12.39 kJ/g: 60% de carboidratos, 22% de proteínas e 10% de gordura — Nutrilab™, Colombo, Brazil);
- 2) Cafeteria (CAF), que recebeu a dieta de cafeteria (22.76 kJ/g: 49% de carboidratos, 22% de proteínas e 24% de gordura), composta por refrigerante sem gás, bolos, salgadinhos, balas, waffles, marshmallows, presuntos, salames e ração padrão, como descrito por Goularte, Ferreira e Sanvitto (2012).

Ao longo do experimento, as ratas foram mantidas em grupos de 3 animais por caixa de criação, sendo que todos os procedimentos realizados foram previamente aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UNIOESTE (certificado nº 17/2016).

2.2 Coleta dos tecidos e verificação da obesidade

Ao término do período experimental, as ratas foram pesadas, anestesiadas e eutanasiadas por decapitação em guilhotina. As gorduras perigonadal e retroperitoneal foram dissecadas e pesadas para verificar a condição de obesidade. Em seguida, o membro posterior direito foi coletado para dissecação e fixação da tíbia em formol 10% por 24 horas.

2.3 Preparo e análise morfométrica

Após a fixação, as tíbias passaram pela descalcificação em ácido tricloroacético 5% (TCA) por sete dias. Na sequência, os ossos foram submetidos ao processamento histológico de rotina para a inclusão em parafina, cortados transversalmente na espessura de 7 μm em micrótomo (*Olympus* CUT 4055), sendo por fim corados com hematoxilina e eosina (HE). As secções histológicas foram analisadas e fotomicrografadas em microscópio (*Olympus* BX60), e as imagens digitalizadas foram avaliadas no programa Image-Pro Plus 6.0[®].

Para análise da espessura do osso cortical e da área da cavidade medular, foram utilizadas as fotomicrografias das tíbias, com aumento final de 40X (Figura 1A). A mensuração da espessura do osso cortical foi realizada em 3 medições equidistantes em cada corte histológico, desde a superfície periosteal até a superfície endosteal (CARVALHO et al., 2010). A análise da área da cavidade medular dos ossos foi delimitada automaticamente pelo sistema de análise de imagens, contornando o perímetro da superfície endosteal. Já o número de osteócitos foi obtido por meio da contagem das células com aumento de 400X, utilizando um retângulo de área conhecida (100x200 μm), sobreposto em três pontos equidistantes nos cortes transversais na região da diáfise da tíbia (Figura 1B).

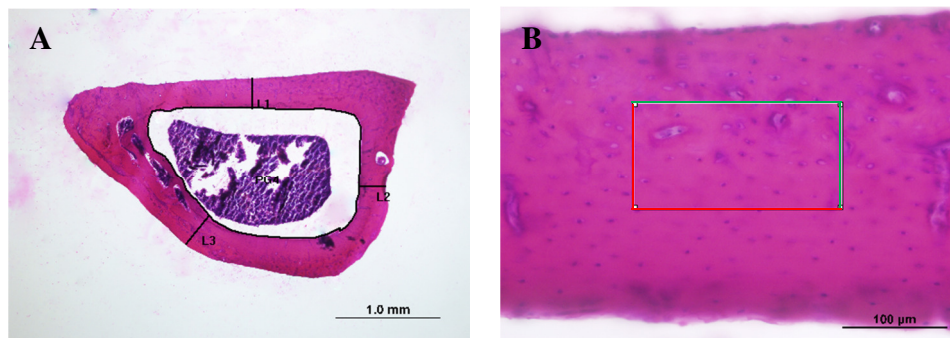


Figura 1: Fotomicrografias da tíbia de ratas Wistar, corte transversal, coloração em hematoxilina e eosina. Em A, representação da mensuração da área do canal medular e da espessura do osso cortical em três pontos equidistantes; aumento final de 40x. Em B, representação da contagem do número de osteócitos com auxílio de um retângulo de 100x200 μm , cujas bordas vermelhas e verdes foram consideradas de exclusão e inclusão, respectivamente; aumento final de 400x.

2.4 Análise estatística

Os dados obtidos foram analisados no programa GraphPad Prism 6.0[®] por meio da análise de variância ANOVA, complementado pelo teste *t* para amostras independentes, adotando-se $p < 0,05$ como estatisticamente significativo. Os resultados foram apresentados como média \pm desvio padrão da média.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Indução da obesidade

A dieta de cafeteria utilizada nesse estudo induziu à condição de obesidade, o que pode ser constatado pelo aumento estatisticamente significativo no peso corporal (g) e quantidade de gorduras perigonadal e retroperitoneal (g/100g de peso corporal) das ratas CAF em relação ao CTL (Tabela 1).

Tabela 1: Parâmetros antropométricos obtidos das ratas dos grupos controle e cafeteria.

Grupos	Peso corporal (g)	Gordura Perigonadal (g/100g)	Gordura Retroperitoneal (g/100g)
Controle (CTL)	207,6 ± 13,92	1,241 ± 0,41	1,025 ± 0,58
Cafeteria (CAF)	256,4 ± 11,15*	5,180 ± 0,56*	1,874 ± 0,25*
p valor	p < 0,0001	p < 0,0001	p < 0,0105

*<0,05 na comparação entre os grupos. ANOVA, teste t. Valores expressos como média ± desvio padrão da média.

Blundell e Gillet (2001) afirmaram que indivíduos obesos consomem dietas com alto teor de gordura, entre estas, a dieta de cafeteria. Esses alimentos possuem muitos carboidratos, na sua maioria simples, grandes quantidades de gordura, principalmente saturadas e/ou trans e baixo teor de proteínas, fibras alimentares e micronutrientes (BAYOL et al., 2010).

O acúmulo de gordura perigonadal e retroperitoneal nas ratas do presente estudo corrobora com o resultado de Rodriguez et al. (2004), que demonstraram que a dieta foi eficiente para induzir um aumento da adiposidade em ratos Wistar. Devido ao livre acesso dos animais aos alimentos hipercalóricos, esse modelo é caracterizado pelo rápido ganho de peso e aumento das gorduras abdominais, como verificado no presente estudo, sendo que disfunções neuronais, quadro pré-diabético e de resistência à insulina, devido à alimentação desbalanceada, também podem ser observados (SAMPEY et al., 2011).

3.2 Mensurações morfométricas

Não houve diferença significativa ($P > 0,05$) na área do canal medular entre os grupos CTL e CAF. Porém, houve um aumento no número de osteócitos associado a uma menor espessura do osso cortical da tíbia das ratas do grupo CAF em relação ao CTL (Tabela 2).

Tabela 2: Parâmetros histomorfométricos da tíbia de ratas dos grupos controle e cafeteria.

Grupos	Área do Canal Medular (mm ²)	Número de Osteócitos ¹	Espessura do Osso Cortical (µm)
Controle (CTL)	3,255 ± 0,327	26,79 ± 1,509	388,6 ± 10,66
Cafeteria (CAF)	2,806 ± 0,254	31,50 ± 1,138*	321,2 ± 7,810*
p valor	p = 0,2973	p = 0,0259	p = 0,0002

*<0,05 na comparação entre os grupos. ANOVA, teste t. Valores expressos como média ± desvio padrão da média.

¹ O número de osteócitos refere-se a contagem realizada em uma área conhecida (retângulo-100x200µm).

O número de osteócitos teve um significativo aumento nos animais obesos. Evidências crescentes sugerem que existe uma associação positiva entre a gordura corporal e a densidade mineral óssea mediada não apenas por fatores bioquímicos, mas também por fatores biomecânicos localizados, resultantes do aumento do peso corporal (LENCHIK et al., 2003). A relação entre a morfologia óssea e as cargas

mecânicas é descrita pela Lei de Wolf, que afirma que tensões impostas aos ossos geram modificações em seu tamanho, forma e densidade (HILLAM; SKERRY, 1995).

Como afirmaram Ducan e Tuner (1995), fatores biomecânicos estimulam a resposta celular por meio de um processo chamado de mecanotransdução. Um estímulo mecânico externo produz deformação no osso, gerando uma pressão no fluido presente dentro do espaço pericelular, localizado entre os prolongamentos citoplasmáticos dos osteócitos e a parede dos canalículos que os envolvem (YOU et al., 2001). A pressão mecânica produz compressão e tração no tecido, gerando uma força de arrasto no fluido, a qual irá desencadear alterações conformacionais em proteínas integridinas, promovendo ligações com outras proteínas e componentes do citoesqueleto dos osteócitos (SCOTT et al., 2008). A alteração na conformação do citoesqueleto, por sua vez, age sobre a regulação da expressão gênica promovendo a síntese de mediadores bioquímicos, como prostaglandinas ou fatores de crescimento semelhante à insulina, desencadeando uma sinalização celular parácrina. Esses mediadores sintetizados agem estimulando a diferenciação de células progenitoras localizadas na superfície do tecido ósseo, levando a um aumento na atividade osteogênica dos osteoblastos (EHRlich; LANYON, 2002; HUGHES-FULFORD, 2004), com diminuição da apoptose e aumento da proliferação celular (ROBLIN et al., 2006; EHRlich & LANYON, 2002), seguida pela diferenciação dos osteoblastos em osteócitos por meio da via de sinalização celular Wnt/ β -catenina (BONEWALD; JOHNSON, 2008).

Foi observado também no grupo CAF uma diminuição na espessura do osso cortical da tíbia em relação ao grupo CTL, de forma que não foi confirmada no presente estudo o fato de que a obesidade fortalece os ossos estimulando o anabolismo celular e a síntese de matriz. Segundo Kershaw e Jeffrey (2004), a obesidade é caracterizada por uma inflamação crônica, que leva a produção de vários fatores pró-inflamatórios, onde os adipócitos secretam várias citocinas locais como o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e interleucinas (IL-1, IL-6). Estudos prévios demonstraram que em animais obesos há uma significativa perda de massa óssea resultante do aumento da atividade osteoclástica, estimulada por esses fatores pró-inflamatórios através da via RANKL/RANK/OPG (VARGAS, et al., 1996; KHOSLA, 2001; PFEILSCHIFTER et al., 2002; CAO, 2011). Apesar de conhecidas, as vias de modulação dos mediadores químicos da inflamação sobre o dinamismo do tecido ósseo ainda precisam ser melhor esclarecidas, sendo esse um amplo campo de pesquisa.

Luo et al. (2006) e Peng et al. (2008) verificaram que em animais, a adiponectina induz a osteoclastogênese indiretamente pela via RANKL/RANK/OPG, estimulando o ligante (RANKL) e inibindo a osteoprotegerina (OPG), com consequente aumento da absorção óssea (GONNELLI et al., 2008). RANKL é uma citocina que se liga ao receptor de ativação do fator nuclear Kappa β (RANK), proporcionando a diferenciação e o aumento da sobrevivência dos osteoclastos. Apesar da adiponectina estimular a osteoclastogênese via RANKL/RANK, esta provavelmente não foi a responsável pela diminuição na espessura do osso cortical do presente estudo, visto que os níveis plasmáticos de adiponectina são significativamente reduzidos na obesidade (ARITA et al., 1999).

Paralelamente, os estrogênios constituem uma série de hormônios produzidos pelos folículos ovarianos femininos, relacionados com o controle da ovulação e com o desenvolvimento de características femininas. Sabe-se que esses hormônios desempenham papel fundamental na manutenção da homeostase esquelética (WEITZERMANN; PACIFICI, 2006; CAMPOS, et al., 2009), ao estimular a redução da reabsorção óssea pelos osteoclastos, consequentemente diminuindo assim o processo de remodelação óssea (ZHAO, 2007). Em conformidade com Piai et al. (2005) observou-se que a redução de estrogênio prejudicou de forma significativa a reparação do tecido ósseo em ratas fêmeas que se encontravam na pós-menopausa. Portanto, esses hormônios inibem a atividade osteoclástica, diminuindo assim o processo de remodelação óssea por mecanismos ainda não bem esclarecidos (KAMAEDA et al., 1997; ZHAO, 2007). Sagae et al. (2012) demonstraram previamente a redução do pico pré-ovulatório de estradiol nas fêmeas obesas por dieta de cafeteria. Assim, apesar da obesidade induzida por dieta de cafeteria causar oscilações nos picos de estradiol, essa alteração hormonal deve estar presente por períodos maiores de tempo para que possa ser apontada como responsável por mudanças no tecido ósseo.

Todavia, ainda é provável considerar que a alimentação com dieta de cafeteria possa ter sido responsável pela redução da espessura do osso cortical. A ingestão de alto teor de gordura pode ter interferido na absorção de cálcio intestinal, diminuindo a biodisponibilidade do mesmo para a gênese óssea, como já demonstrando anteriormente (NELSON; FRANTZ; ZIEGLER, 1998). Ainda, devido a importância do cálcio em diversas funções orgânicas, aliado ao fato deste não ser sintetizado endogenamente e estar depositado principalmente no tecido ósseo (99%) (GRÜDTNER; WEINGRILL; FERNADES, 1997; MAHAN; ESCOTT-STUMP, 2010), quando se faz necessário suprir a necessidade desse íon para o organismo, o processo de reabsorção óssea disponibiliza cálcio a partir da matriz mineralizada do osso para a realização das funções reguladoras do indivíduo, culminando com a redução da massa óssea, principalmente no tecido ósseo esponjoso.

De acordo com Mahan e Escott-Stump (2010), o cálcio proveniente da dieta é essencial para permitir o ganho de massa óssea, crescimento do osso e o aumento do depósito mineral. Já Miller, Jarvis e Mclean (2001) afirmaram que a quantidade de cálcio fornecida pelas dietas *fast-food* é deficiente. A substituição do leite pelos refrigerantes acaba sendo extremamente danosa, visto que estes contêm aromatizantes, corantes, conservantes e principalmente ácido fosfórico, que por sua vez interfere na habilidade de assimilação do cálcio dos alimentos, ou seja, inibe sua absorção (MILLER; JARVIS; MCLEAN, 2001). Ainda, as refeições *fast-food* normalmente são associadas a menor ingestão de frutas e vegetais, fontes importantes de cálcio e de vitamina D (BOLON; CAMPAGNOLO; FEIJE, 2002; CINTRA; GONZALES, 2009), que auxilia a absorção do íon cálcio. Segundo Pollock et al. (2007), indivíduos com excesso de peso e obesos tendem a ter menores concentrações circulantes de vitamina D.

Assim, como a dieta de cafeteria disponibilizada aos animais no presente estudo não teve constituintes lácteos, derivados ou vegetais, é possível afirmar que esta é deficiente em cálcio. Quando a ingestão de cálcio não é adequada, sua homeostase circulante é mantida por meio da mobilização da forma mineral desse íon a partir dos fluidos ósseos, ou diretamente por meio da atividade osteoclástica (MAHAN; ESCOTT-STUMP, 2010). Segundo Riggs e Melton (1983), frente à redução da disponibilidade de cálcio para o metabolismo, acontece o aumento da reabsorção óssea, afetando ossos trabeculares e corticais.

Por fim, verifica-se que são vários os possíveis mecanismos envolvidos na regulação do dinamismo ósseo e, nesse sentido, necessita-se de estudos mais aprofundados para melhor elucidar a relação entre a dieta de cafeteria, obesidade e tecido ósseo.

4. CONCLUSÕES

A obesidade induzida pela dieta de cafeteria promoveu alterações morfométricas no tecido ósseo de ratas, caracterizadas pelo aumento no número de osteócitos e redução na espessura do osso cortical.

5. REFERÊNCIAS

- ANDIA, D. C.; CERRI, P. S.; SPOLIDORIO, L. C.; Tecido ósseo: aspectos morfológicos e histofisiológicos. *Revista de Odontologia da UNESP*, v. 35, n. 2, p. 191-198, 2006.
- ARITA, Y., KIHARA, S.; OUCHI, N.; TAKAHASHI, M.; MAEDA, K.; MIYAGAWA, J.; HOTTA, K.; SHIMOMURA, I.; NAKAMURA, T.; MIYAOKA, K.; KURIYAMA, H.; NISHIDA, M.; YAMASHITA, S.; OKUBO, K.; MATSUBARA, K.; MURAGUCHI, M.; OHMOTO, Y.; FUNAHASHI, T.; MATSUZAWA, Y. Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, v. 257, n. 1, p. 79-83, 1999.
- BAYOL, S. A.; SIMBI, B. H.; FOWKES, R. C.; STICKLAND, N. C. A Maternal "junk food" diet in pregnancy and lactation promotes nonalcoholic fatty liver disease in rat offspring. *Endocrinology*, v. 151, p. 1451-1456, 2010.

- BERTRAND, R. L.; SENADHEERA, S.; MARKUS, I.; LIU, L.; HOWITT L.; CHEN, H. A Western diet increases serotonin availability in rat small intestine. *Endocrinology*, v. 152, n. 1, p. 36-347, 2011.
- BLUNDELL, J. E.; GILLET, A. Control of food intake in the obese. *Obesity Research*, v. 9, n. 4, p. 263-270, 2001.
- BOLON, B.; CAMPAGNUOLO, G.; FEIJE, U. Duration of bone protection by a single osteoprotegerin injection in rats with adjuvant- induced arthritis. *Cellular and Molecular Life Sciences*, v. 59, p. 1569-1576, 2002.
- BONEWALD, L. F.; JOHNSON, M. L. Osteocytes, mechanosensing and Wnt signaling. *Bone*, v. 42, n. 4, p. 606-615, 2008.
- BRASIL. Ministério da Saúde. *Vigitel Brasil 2014: vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico*. Brasília: Ministério da Saúde, 2014. Disponível em: <http://bvsm.sau.gov.br/bvs/publicacoes/vigitel_brasil_2014.pdf>.
- CABALLERO, B. The Global Epidemic of Obesity: an overview. *Epidemiologic Reviews*, v. 29, 2007.
- CAMPOS, M. L. G.; CORRÊA, M. G.; VELASCO, F. G.; SALLUM, E. A.; JUNIOR, F. H. N.; CASATI, M. Z.; SALLUM, A. W. A deficiência de estrogênio e a osteoporose como paradigmas atuais em periodontia, *Revista Periodontia*, v. 19, p. 64-72, 2009.
- CAO, J. J. Effects of obesity on bone metabolism. *Journal of orthopaedic surgery and research*, v. 6, n. 30, p. 01-07, 2011.
- CARVALHO, A. C. B.; HENRIQUES, H. N.; PANTALEÃO, J. A.; POLLASTRI, C. E.; FERNANDES, G. V. O.; GRANJEIRO, J. M.; GUZMÁN-SILVA, M. A. Histomorfometria do tecido ósseo em ratas castradas tratadas com tibolona. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, v. 46, n. 3, p. 235-243, 2010.
- CINTRA, M. G. C.; GONZALES, N. B. B. Dietas E Alimentos – Fatores Interferentes Na Biodisponibilidade De Cálcio. *Revista Simbio-Logias*, v. 2, n. 1, p. 90-101, 2009.
- DUNCAN, R. L.; TUNER, C. H. Mechanotransduction and the functional response of bone to mechanical strain. *Calcified Tissue International*, v. 57, n. 5, p. 344-358, 1995.
- EHRlich, P. J.; LANYON, L. E. Mechanical strain and bone cell function: a review. *Osteoporosis International*, v. 13, n. 9, p. 688-700, 2002.
- EL HAGE, R.; HAGE, Z. E.; JACOB, E.; MOUSSA, E.; THEUNYNCK, D.; BADDOURA, R. Bone mineral content and density in overweight and control adolescent boys. *Journal of Clinical Densitometry*, v. 14, n. 2, p. 122-128, 2011.
- GONNELLI, S.; CAFFARELLI, C.; DEL SANTO, K.; CADIRNI, A.; GUERRIERO, C.; LUCANI, B.; FRANCI, B.; NUTI, R. The Relationship of Ghrelin and Adiponectin with Bone Mineral Density and Bone Turnover Markers in Elderly Men. *Calcified Tissue International*, v. 83, p. 55-60, 2008.
- GOULARTE, J. F.; FERREIRA, M. B. C.; SANVITTO, G. L. Effects of food pattern change and physical exercise on cafeteria diet-induced obesity in female rats. *British Journal of Nutrition*, v. 108, p. 1511–1518, 2012.
- GRÜDTNER, V. S.; WEINGRILL, P.; FERNANDES, A. L. Aspectos da absorção no metabolismo do cálcio e vitamina D. *Revista Brasileira de Reumatologia*, v. 37, n. 3, p. 143-151, 1997.

- HILLAM, R. A.; SKERRY, T. M. Inhibition of bone resorption and stimulation of formation by mechanical loading of the modeling rat ulna in vivo. *Journal of Bone and Mineral Research*, v. 10, n. 5, p. 683–689, 1995.
- HUGHES-FULFORD, M. Signal transduction and mechanical stress. *Science's STKE*, v. 249, n. 12, p. 01-08, 2004.
- KAC, G.; VELÁSQUEZ-MELÉNDEZ, G. A transição nutricional e a epidemiologia da obesidade na América Latina; *Caderno de Saúde Pública*, v. 19, n. 1, p. 4-5, 2003.
- KAMEDA, T.; MANO, H.; YUASA, T.; MORI, Y.; MIYAZAWA, K.; SHIOKAWA, M.; NAKAMARU, Y.; HIROI, E.; HIURA, K.; KAMEDA, A.; YANG, N. N.; HAKEDA, Y.; KUMEGAWA, M. Estrogen Inhibits Bone Resorption by Directly Inducing Apoptosis of the Bone-resorbing Osteoclasts. *The Journal of Experimental Medicine*, v. 186, n. 4, p. 489-495, 1997.
- KERSHAW, E. E.; JEFFREY F. S. Adipose tissue as an endocrine organ. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, v. 89, n. 6, p. 2548-2556, 2004.
- KHOSLA, S. Minireview: the OPG/RANKL/RANK system. *Endocrinology*, v. 142, n. 12, p. 5050-5055, 2001.
- LEHNERT, T.; SONNTAG, D.; KONNOPKA, A.; RIEDEL-HELLER, S.; KONIG, H. H. . Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism, v. 27, n. 2, p. 105-115, 2013.
- LENCHIKA, L.; REGISTERB, T. C.; HSUC, F. C.; LOHMANN, K.; NICKLASD, B. J.; FREEDMAND, B. I.; LANGEFELDC, C. D.; CARRA, J. J.; BOWDEND, D. W. Adiponectin as a novel determinant of bone mineral density and visceral fat. *Bone*, v. 33, n. 4, p. 646–651, 2003.
- LUO, X. H.; GUO, L. J.; XIE, H.; YUAN, L. Q.; WU, X. P.; ZHOU, H. D.; LIAO, E. Y. Adiponectin stimulates RANKL and inhibits OPG expression in human osteoblasts through the MAPK signaling pathway. *Journal of Bone and Mineral Research*, v. 21, p. 1648–1656, 2006.
- MAHAN, L. K.; ESCOTT-STUMP, S. Krause, alimentos, nutrição & dietoterapia. 12.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010.
- MAZZOCCANTE, F. P.; MORAES, J. F. V. N.; CAMPBELL, C. S. G. Gastos públicos com a obesidade e doenças associadas no Brasil. *Revista Ciências Médicas*, v. 21, n. 1, p. 24-34, 2012.
- MILLER, G.D.; JARVIS, J.K.; MCBEAN, L. D. The Importance of Meeting Calcium Needs with Foods. *The Journal of the American College of Nutrition*, v. 20, n. 2, p. 168-185, 2001.
- MOORE, K. L.; DALLEY, A. F.; AGUR, A. M. R. Anatomia orientada para a clínica. 7.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2014.
- NELSON, S. E.; FRANTZ, J. A.; ZIEGLER, E. E. Absorption of fat and calcium by infants fed a milk-based formula containing palm olein. *Journal of the American College of Nutrition*, v. 17, n. 4, p. 327-32, 1998.
- NORDIN, M. F.; FRANKEL, V. H. Basic Biomechanics of the Musculoskeletal System. 3.ed. Baltimore: Lippincott Williams and Wilkins, 2001.
- PENG, X. D.; XIE, H.; ZHAO, Q.; WU, X. P.; SUN, Z. Q.; LIAO, E. Y. Relationships between serum adiponectin, leptin, resistin, visfatin levels and bone mineral density, and bone biochemical markers in Chinese men. *Clinica Chimica Acta*, v. 387, p. 31–35, 2008.

- PFEILSCHIFTER, J.; KODITZ, R.; PFOHL, M.; SCHATZ, H. Changes in proinflammatory cytokine activity after menopause. *Endocrine reviews*, v. 23, n. 1, p. 90-119, 2002.
- PIAI, C.R.; CARVALHO, V. A. P.; WERKMAN, C.; ANBINDER, A. L.; ROCHA, R. F. Efeitos do risedronato na reparação óssea de ratos machos e fêmeas com osteopenia. *Ciência Odontológica Brasileira*, v. 8, n. 3, p. 77-82, 2005.
- POLLOCK, N. K.; LAING, E. M.; BAILE, C. A.; HAMRICK, M. W.; HALL, D. B.; LEWIS, R. D. 2007. Is adiposity advantageous for bone strength? A Peripherals quantitative computed tomography study in late adolescent females. *The American Journal of Clinical Nutrition*, v. 86, p. 1530-1538, 2007.
- RATH, N. C.; HUFF, G. R.; HUFF, E. W. BALOG, J. M. Factors regulating bone maturing and strenght in poultry. *Poultry Science*, v. 79, n. 7, p. 1024-1032, 2000.
- REID, I. R.; Relationship between fat and bone. *Osteoporosis International*, v. 19, p. 595-606, 2008.
- RIGGS, B. L.; MELTON, L. J. Evidence for two distinct syndromes of involuntional osteoporosis. *The American Journal of Medicine*, v. 75, n. 6, p. 899-901, 1983.
- ROBLING, A. G.; CASTILLO, A. B.; TURNER, C. H. Biomechanical and molecular regulation of bone remodeling. *Annual Review of Biomedical Engineering*, v. 8, n. 1, p. 455-498, 2006.
- RODRIGUEZ, E.; RIBOT, J.; RODRIGUEZ, A. M.; PALOU, A. PPAR-gamma2 expression in response to cafeteria diet: gender- and depot-specific effects. *Obesity Reviews*, v.12, p.1455-1463, 2004.
- ROSINI, T. C.; SILVA, A. S. R.; MORAES, C. Obesidade induzida por consumo de dieta: modelo em roedores para o estudo dos distúrbios relacionados com a obesidade. *Revista da Associação Médica Brasileira*, v. 58, n. 3, p. 383-387, 2012.
- SAGAE, S. C.; MENEZES, E. F.; BONFLEUR, M. L.; VANZELA, E. C.; ZACHARIAS, P.; LUBACZEUSKI, C.; FRANCI, C. R.; SANVITTO, G. L. Early onset of obesity induces reproductive deficits in female rats. *Physiology & Behavior*, v. 105, n. 5, p. 1104-1111, 2012.
- SAMPEY, B. P.; VANHOOSE, A. M.; WINFIELD, H. M.; FREEMERMAN, A. J.; MUEHLBAUER, M. J.; FUEGER, P. T.; NEWGARD, C. B.; MAKOWSKI, L. Cafeteria diet is a robust model of human metabolic syndrome with liver and adipose inflammation: comparison to high-fat diet. *Obesity*, v. 6, p. 1109-1117, 2011.
- SCOTT, A.; KHAN, K. M.; DURONIO, V. HART, D. A. Mechanotransduction in human bone in vitro cellular physiology that underpins bone changes with exercise. *Sports Medicine*, v. 38, n. 2, p. 139-160, 2008.
- SHAFAT, A.; MURRAY, B.; RUMSEY, D. Energy density in cafeteria diet induced hyperphagia in the rat. *Appetite*, v. 52, p. 34-38, 2009.
- SHILLS, M. E.; OLSON, J.; SHIKE, M.; ROSS, C. A. Tratado da nutrição moderna na saúde e na doença. 10.ed. São Paulo: Editora Manole, 2009.
- SPIEGELMAN, B. M.; FLIER J. S. Obesity and the regulation of energy balance. *Cell*, v. 104, n. 4, p. 531-543, 2001.

VARGAS, S. J.; NAPRTA, A.; GLACCUM, M.; LEE, S. K.; KALINOWSKI, J.; LORENZO, J. A. Interleukin-6 expression and histomorphometry of bones from mice deficient in receptors for interleukin-1 or tumor necrosis factor. *Journal of bone and mineral research*, v. 11, n. 11, p. 1736-1744, 1996.

WEITZMANN, M. N.; PACIFICI, R. Estrogen deficiency and bone loss: an inflammatory tale. *The Journal of Clinical Investigation*, v. 116, n. 5, p. 186-194, 2006.

WHO. World Health Organization. *World Health Statistics 2014*. Geneva, 2014. Disponível em: <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/112738/1/9789240692671_eng.pdf> [Acesso em 25 abr 2016].

YOU, L.; COWIN, S. C.; SCHAFFLER, M. B.; WEINBAUM, S. A model for strain amplification in the actin cytoskeleton of osteocytes due to fluid drag on pericellular matrix. *Journal of Biomechanics*, v. 34, n. 11, p. 1375-1386, 2001.

ZHAO, L. J.; JIANG, H.; MAULIK, D.; DREES, B.; HAMILTON, J.; DENG, H. W. Correlation of obesity and osteoporosis: effect of fat mass on the determination of osteoporosis. *Journal of Bone and Mineral Research*, v. 23, p. 17-29, 2008.

ZHAO, L. J.; LIU, Y. J.; LIU, P. Y.; HAMILTON, J.; RECKER, R. R.; DENG, H. W. Relationship of obesity with osteoporosis. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, v. 92, p. 1640-1646, 2007.