

**CURSO DE NUTRIÇÃO E METABOLISMO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**

MAURÍLIO GUERESTE NETO

**Dieta hipocalórica hiperproteica promove redução da densidade mineral
óssea em ratas fêmeas adultas não obesas.**

Ribeirão Preto

2022

MAURÍLIO GUERESTE NETO

**Dieta hipocalórica hiperproteica promove redução da densidade mineral
óssea em ratas fêmeas adultas não obesas.**

Trabalho apresentado à disciplina de RNM4509 - Trabalho de Conclusão de Curso, para
graduação no Curso de Nutrição e Metabolismo da FMRP/USP.

Orientadora: Dra. Iana Mizumukai de Araújo

Ribeirão Preto

2022

Autorizo a reprodução e divulgação total deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

A inclusão deste trabalho foi aprovada pela Comissão Coordenadora do Curso em sua 167ª Sessão Ordinária, realizada em 04/11/2022

Resumo

Guereste, Maurílio Neto. **Dieta hipocalórica hiperproteica promove redução da densidade mineral óssea em ratas fêmeas adultas não obesas.** 2022. 20p. Trabalho de Conclusão de Curso (Nutrição e Metabolismo) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, 2022.

Diante da problemática da obesidade e suas comorbidades associadas, diferentes intervenções nutricionais são propostas com o objetivo de promover a redução ponderal. Visando alcançar maior proporção de perda de massa gorda em relação à massa magra, as intervenções possuem como fator comum o déficit calórico mas podem variar em relação às proporções de macronutrientes. A abordagem hipocalórica e hiperproteica se tornou popular pela hipótese de que o maior conteúdo proteico dietético pode aumentar a síntese proteica muscular de forma a atenuar a perda de massa muscular durante o processo de emagrecimento. Uma intervenção como essa deve levar em consideração outros aspectos relativos aos seus efeitos que não se limitam apenas aos tecidos adiposo e muscular. Sobre estes efeitos, sabe-se que o déficit calórico promove a redução da massa óssea e que a ingestão adequada de proteínas é importante no desenvolvimento e manutenção desta. Logo, hipotetiza-se que o aumento do conteúdo proteico em uma dieta para a perda de peso poderia atenuar a perda de massa óssea. Sabe-se que a densidade mineral óssea (DMO) é um indicador da saúde óssea, sendo seus baixos níveis associados a quadros de osteopenia e osteoporose. Portanto, o presente trabalho objetivou avaliar e comparar a DMO de 30 ratas fêmeas jovens-adultas não obesas submetidas à dietas hipocalórica normoproteica e hipocalórica hiperproteica pareadas pelo consumo de dieta padrão ad libitum por um grupo controle. Os animais foram divididos em três grupos: controle (C) n=10, restrição calórica (R) n=10 e restrição calórica hiperproteica (H) n=12 e passaram por 1 semana de adaptação. Após adaptação o grupo C recebeu dieta padrão AIN-93M ad libitum, R recebeu AIN-93 modificada com redução calórica de 30% e H recebeu AIN-93 modificada com redução calórica de 30%, sendo 40% composição proteica. O peso dos animais foi aferido semanalmente, a composição corporal, conteúdo mineral ósseo e DMO foram avaliados por técnica de absorciometria de raios-X de dupla energia (DXA) no período basal, após 4 e 8 semanas do início. Adicionalmente, foi realizado o ensaio mecânico de flexão

em três pontos utilizando as tíbias esquerdas dos animais para avaliar a força máxima até a fratura e rigidez óssea. Os parâmetros foram tratados por teste Oneway Anova e Pós teste de comparações múltiplas de Tuckey. Ao final do experimento o grupo H apresentou menor percentual de gordura corporal (C: $35,5 \pm 3,2\%$; R: $22 \pm 3,4\%$; H: $17,3 \pm 3,5\%$; $p < 0,05$) e a menor DMO média (C: $0,155 \pm 0,003\text{g/cm}^2$; R: $0,149 \pm 0,004\text{g/cm}^2$; H: $0,140 \pm 0,005\text{g/cm}^2$). Os resultados sugerem que os animais que receberam a dieta hiperproteica e hipocalórica apresentaram menor DMO, sugerindo que o excesso de proteínas na dieta pode potencializar a perda de massa óssea causada pela restrição calórica. Além disso, o grupo H apresentou menor gordura corporal final, sugerindo que a dieta com restrição calórica e hiperproteica pode acentuar a perda de gordura corporal.

Palavras-chave: Densidade mineral óssea, dieta hipocalórica, dieta hiperproteica.

Sumário

Introdução	6
Objetivos	7
Métodos	7
Resultados:	11
Discussão:	16
Conclusão	18
Referências bibliográficas	19

Introdução

A obesidade é uma condição patológica em que o acúmulo excessivo de gordura gera implicações metabólicas que expõem um indivíduo ao maior risco de desenvolver doenças crônicas não transmissíveis como diabetes, hipertensão, doenças cardiovasculares e câncer. Essas condições estão associadas com redução da qualidade de vida e aumento das despesas individuais e públicas com atenção à saúde. (TREMMELE, 2017).

Diante da problemática da obesidade e suas comorbidades associadas, diferentes intervenções nutricionais são propostas com o objetivo de promover a redução ponderal. É bem estabelecida a importância dos músculos esqueléticos na manutenção da saúde e qualidade de vida, pois esse tecido não apenas desempenha a função de executar movimentos, mas também atua como um importante mediador metabólico na homeostase dos lipídios, glicose e aminoácidos (SARTORI, 2021).

Partindo desse pressuposto, intervenções nutricionais voltadas para redução ponderal almejam alcançar maior proporção de perda de massa gorda versus massa magra, tendo em comum o déficit calórico, porém com possíveis variações em relação à composição de macronutrientes. Nesse sentido a abordagem nutricional hipocalórica e hiperproteica se tornou popular pela hipótese de que o maior conteúdo proteico dietético pode aumentar a síntese proteica muscular, que se encontra reduzida em uma dieta hipocalórica, de forma a atenuar a perda de massa muscular durante o processo de emagrecimento (PASIAKOS, 2013; WYCHERLEY, 2012).

Entretanto, a relevância de uma intervenção como essa deve levar em consideração outros aspectos relativos aos seus efeitos que não se limitam apenas aos tecidos adiposo e muscular. Sobre estes efeitos, sabe-se que o déficit calórico prolongado promove a redução da massa óssea (VILLAREAL, 2015) e que a ingestão adequada de proteínas é importante fator no desenvolvimento e manutenção desta (WALLACE, 2017). Logo, levanta-se a hipótese de que o aumento do conteúdo proteico em uma dieta voltada para a perda de peso poderia atenuar a perda de massa óssea (WALLACE, 2017).

O controle do metabolismo ósseo é multifatorial e regulado por variáveis como hormônios, peso corporal, dieta e estilo de vida (ZHU, 2020). Tais fatores exercem influência na dinâmica de absorção e excreção do cálcio e deposição e reabsorção óssea. Portanto, é de fundamental importância entender o impacto destas variáveis no metabolismo ósseo afim de prevenir doenças e promover maior qualidade de vida.

A densidade mineral óssea (DMO) é considerada um importante indicador da saúde óssea, sendo seus baixos valores associados a quadros de osteopenia e osteoporose (BOUXSEIN, 2019). Portanto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar e comparar a DMO de 30 ratas fêmeas jovens-adultas não obesas submetidas à dietas hipocalórica normoproteica e hipocalórica hiperproteica pareadas pelo consumo de dieta padrão ad libitum por um grupo controle.

Objetivos

O objetivo primário desse trabalho foi avaliar e comparar a Densidade Mineral Óssea de ratas adultas não obesas submetidas à três tipos de dieta, ad libitum e normoproteica, hipocalórica e normoproteica e hipocalórica e hiperproteica. O objetivo secundário foi avaliar a rigidez óssea, peso e composição corporal dos animais para análises complementares.

Métodos

Esse trabalho foi realizado por meio de experimentos com animais, aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, identificado pelo número do projeto 6/2021. Trata-se de um estudo prospectivo pré-clínico em animais. Foram utilizadas 32 ratas fêmeas da linhagem *Wistar Hannover*.

O trabalho investigou os efeitos de duas dietas com restrição calórica, sendo a primeira com restrição calórica de 30% e a segunda com a mesma porcentagem de restrição, porém com 40% de proteínas. A intervenção dietética teve duração de oito semanas. Os animais foram providos pelo biotério central com 60 dias de idade, passaram por 1 semana de adaptação e 8 semanas de intervenção. Em seguida foram aleatoriamente distribuídos em três grupos compostos por dez animais. Cada grupo recebeu uma dieta diferente em formato de pellets e acesso ad libitum à água, como descrito a seguir:

Grupo controle (C): Composto inicialmente por nove (n=10) animais fêmeas que receberam dieta padrão (AIN-93M, PragSoluções, Jaú, SP, Brasil), ad libitum no período de 8

semanas. No decorrer do experimento 1 animal faleceu durante procedimento com anestésico para realização do DXA, reduzindo para n=9 ao final.

Grupo restrição calórica (R): Composto por dez (n=10) animais fêmeas que receberam dieta padrão com conteúdo calórico reduzido em 30% (AIN-93M mod. 30% de restrição kcal, PragSoluções, Jaú, SP, Brasil) no período de 8 semanas.

Grupo restrição calórica hiperproteica (H): Composto por doze (n=12) animais fêmeas que receberam dieta padrão com restrição calórica de 30% com aumento do conteúdo proteico em 40% (AIN-93M Mod 30% de restrição kcal + 40% de proteína p/p, PragSoluções, Jaú, SP, Brasil) no período de 8 semanas. No decorrer do experimento 1 animal faleceu durante procedimento com anestésico para realização do DXA e outro animal demonstrou de forma temporária comportamento de evitar apoiar uma de suas patas traseiras para se movimentar. Dessa forma, optou-se por utilizar 2 animais adicionais em grupos posteriores e avaliar se o animal que não apoiava a pata demonstraria diferença discrepante nos parâmetros ósseos. Ao final do experimento notamos que não houve, portanto seus dados foram utilizados e o grupo H apresentou n=11.

As composições das três dietas que foram oferecidas durante o período experimental estão descritas na Tabela 1.

Tabela 1 – Composição das dietas controle, restrição calórica (30%) e restrição calórica hiperproteica (40%) (g/kg de dieta) que serão oferecidas durante o período experimental.

Nutrientes	Dieta	Dieta	Dieta
	Controle AIN 93M	Restrição Calórica (30%)	Restrição Calórica Hiperproteica (40%)
Amido de milho	465,7	295,1	68,0
Caseína	140,0	140,0	460,0
Amido dextrinizado	155,0	92,4	49,2
Sacarose	100,0	67,0	34,6
Óleo de soja	40,0	30,0	20,0
Celulose microcristalina	50,0	326,2	313,7
Mix mineral AIN 93	35,0	35,0	35,0
Mix vit AIN 93	10,0	10,0	10,0
L cistina	1,8	1,8	7,0
Bitartarato de colina	2,5	2,5	2,5

BHT*	0,008	0,014	0,014
Kcal/kg	3850	2695	2695
% Carboidratos (g/kg)	73,1	46,4	16,2
% Lipídios (g/kg)	4	3	2
% Proteína (g/kg)	14,2	14,2	46,7

Fonte: Pragsoluções - Jaú/SP.

*Butil-hidroxi-tolueno

Para indução de restrição alimentar, as duas dietas de restrição foram modificadas em sua composição nutricional com base no valor calórico total da dieta AIN-93M de 3850 kcal/kg. Assim, as duas dietas de restrição foram mantidas isocalóricas em 2695 kcal/kg de dieta, correspondendo a 30% de restrição calórica. Os grupos com restrição calórica foram ofertados de dieta controlada diariamente para parear a quantidade total (em gramas) consumida pelo C. A quantidade oferecida aos dois grupos de restrição (R e H) foi calculada pela diferença de peso entre a dieta oferecida e sua sobra após 24 horas do consumo do C. A porcentagem recomendada de proteína para animais após a fase de crescimento é de 12% (140g de caseína/kg de dieta) e 1,8 g de L-cistina/kg de dieta (REEVES, 1993), sendo assim foi utilizado 40% de proteína total em relação ao peso da dieta (1kg) para caracterizar uma dieta hiperproteica. Para isso um ajuste foi realizado na composição da dieta para cerca de 47% de caseína/kg, visto que a caseína oferece cerca de 85% de proteína bruta, dessa forma a porcentagem corresponde a 400g de proteína/kg da dieta (40% do aumento do conteúdo de proteína por kg).

As condições clínicas dos animais foram avaliadas uma vez por dia, com troca de água e oferta diária de dieta e pesagens semanais de suas massas corporais. Nos períodos da 2^a, 5^a e 8^a semana de experimento foi realizada a aferição da glicemia. Os animais foram colocados em caixa de madeira com lâmpada incandescente para aquecimento e maravalha durante 1 minuto para promover a dilatação dos vasos sanguíneos. Após este período foram imobilizados manualmente e suas caudas perfuradas com a ponta de uma agulha fina para recolher uma gotícula de sangue em tiras teste acopladas no aparelho monitor de glicemia Accu-Chek® Performa.

A composição corporal dos animais (massa magra, massa gorda e conteúdo mineral ósseo) foi determinada por meio do uso da técnica de absorciometria de raios-X de dupla energia (DXA) em equipamento GE Medical Systems Lunar (Prodigy Series X, Wisconsin, EUA), utilizando software para pequenos animais fornecido pelo fabricante. As avaliações

foram realizadas no período basal, 4 semanas e 8 semanas após o início da intervenção alimentar.

Após a oitava semana, os animais foram eutanasiados pelo método de decapitação. As tíbias esquerdas foram removidas e após a retirada de todo o músculo o osso foi envolvido em gaze com soro fisiológico e armazenado em tubo falcon e congelado a -80°C para posterior realização do ensaio mecânico de flexão em três pontos para avaliar a força e a resistência biomecânica do osso.

O ensaio foi realizado no Laboratório de Bioengenharia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Brasil. As amostras foram armazenadas em freezer a -20°C por um período máximo de 2 meses, sendo transferidas para geladeira a -18°C um dia antes da realização do ensaio. No dia do teste, as amostras foram descongeladas duas horas antes do início. Foram identificadas, pesadas em balança de precisão (g) e medidas com paquímetro (mm). Os procedimentos foram realizados de acordo com Turner (2006) em tíbia esquerda intacta. As amostras foram posicionadas sobre a superfície de uma barra com dois pontos de apoio distanciados em 25 mm em máquina de ensaio mecânico (EMIC DL 10000 - Brasil) e desviadas por uma barra entalhada, com a força aplicada no sentido antero-posterior. A velocidade decrescente da barra entalhada foi de 1 mm/min. A célula de força posicionada sobre o osso no centro da diáfise. Com um computador acoplado à máquina universal de ensaio e o programa de computador TESC® v3.04 foi possível controlar todos os parâmetros dos ensaios e obter o valor da força referente a cada deslocamento (pontos de força x deslocamento). A aquisição destes pontos foi realizada em intervalos não padronizados de tempo definidos pelo programa. O software TESC® v3.04 emitiu um arquivo de extensão no formato “.txt” para cada ensaio. Este arquivo contém todos os pontos adquiridos durante os ensaios [tempo (s) x deslocamento (mm) x força (N)]. Com estes pontos foi possível construir gráficos e calcular as propriedades mecânicas. A medida de força máxima (N) representa a maior carga alcançada antes da fratura. A medida de rigidez (N/mm) mede a quantidade de deformação elástica que uma estrutura sofre quando carregada.

O significado estatístico dos dados foi determinado utilizando o software graphpad prism 5.0. Os parâmetros foram tratados por teste Oneway Anova e Pós teste de comparações múltiplas de Tuckey. O nível de evidência de diferença entre os grupos é de $p < 0,05$ e intervalos de confiança que não englobam o valor 0.

Resultados:

Os dados de pesos basais e finais estão representados nas Figuras 1 e 2, respectivamente. Os grupos C ($190,6 \pm 10,7\text{g}$) e R ($183,5 \pm 8,5\text{g}$) apresentaram diferença estatisticamente significativa para o peso basal apenas em comparação ao H ($172,5 \pm 9,4\text{g}$), fato que pode ser atribuído a heterogeneidade dos pesos dos animais fornecidos para o experimento. O gráfico relativo ao peso final demonstra diferenças significativas entre todos (C: $222,2 \pm 9,7\text{g}$; R: $198,5 \pm 12,0\text{g}$; H: $181,4 \pm 13,2\text{g}$).

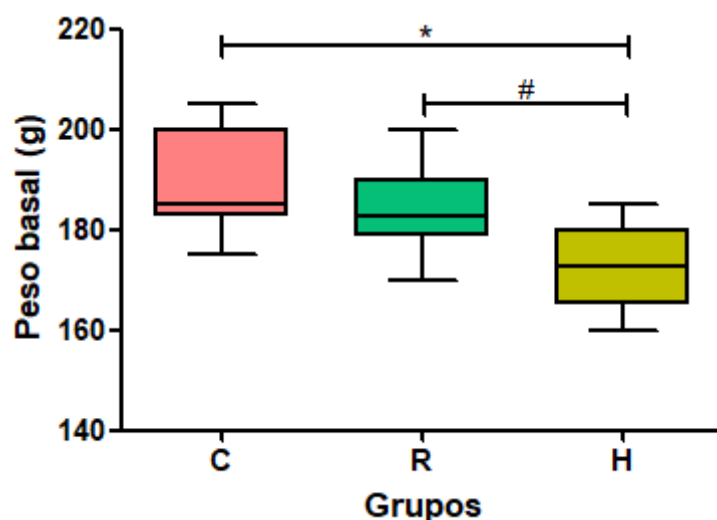


Figura 1. Peso basal. Grupo Controle (C); Grupo Restrição (R); Grupo Hiperproteico (H). * = Diferença significativa em relação ao grupo controle com $p < 0,05$; # = Diferença significativa entre os grupos de restrição $p < 0,05$.

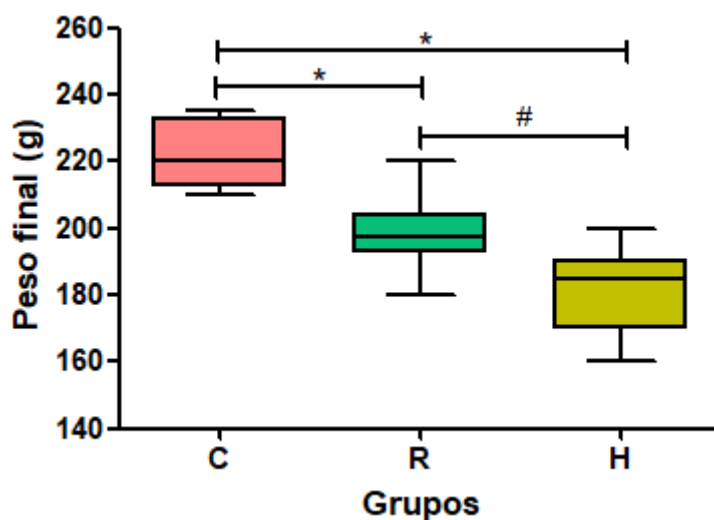


Figura 2: Peso final. Grupo Controle (C); Grupo Restrição (R); Grupo Hiperproteico (H). * = Diferença significativa em relação ao grupo controle com $p < 0,05$; # = Diferença significativa entre os grupos de restrição $p < 0,05$.

As Figuras 3 e 4 demonstram a evolução ponderal dos animais ao longo da intervenção.

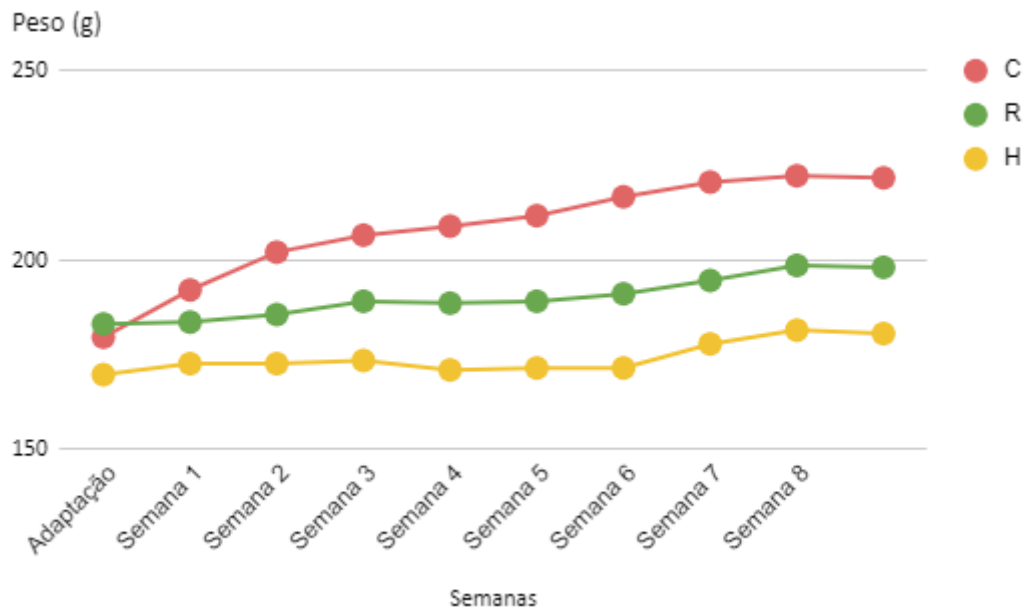


Figura 3: Evolução ponderal. Grupo Controle (C); Grupo Restrição (R); Grupo Hiperproteico (H).

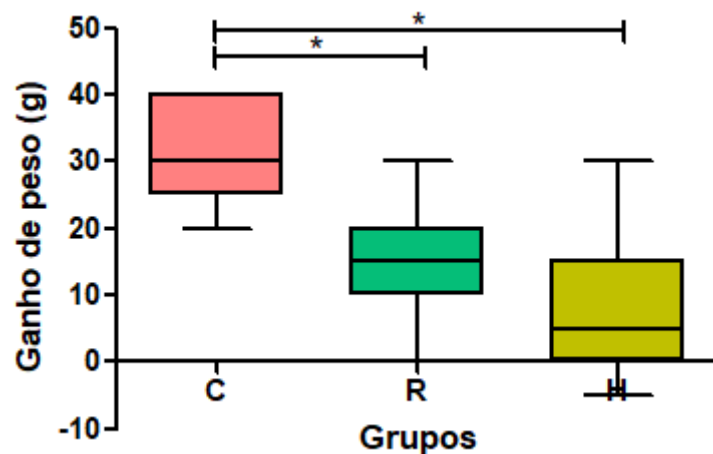


Figura 4: Ganho de peso dos animais. Grupo Controle (C); Grupo Restrição (R); Grupo Hiperproteico (H). * = Diferença significativa em relação ao grupo controle com $p < 0,05$.

Os grupos R e H não apresentaram diferença significativa no ganho de peso entre si, porém ambos apresentaram em comparação ao grupo C (C: $31,1 \pm 7,4g$; R: $15,0 \pm 7,8g$; H: $8,2 \pm 10,8g$).

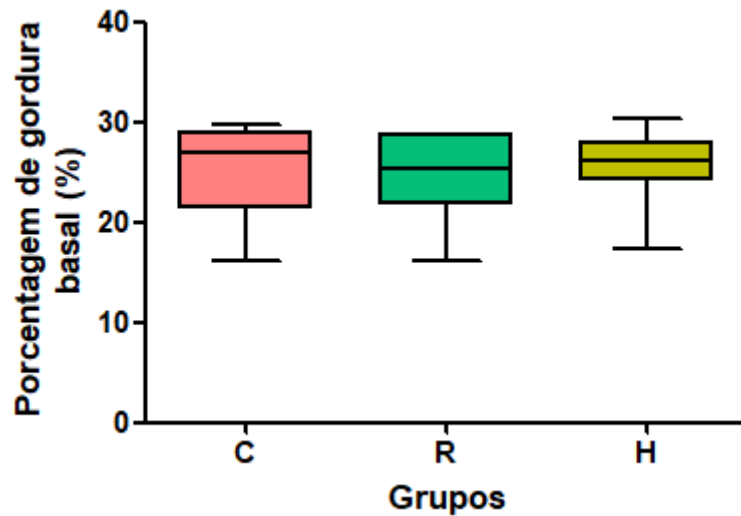


Figura 5: Porcentagem de gordura basal. Grupo Controle (C); Grupo Restrição (R); Grupo Hiperproteico (H).

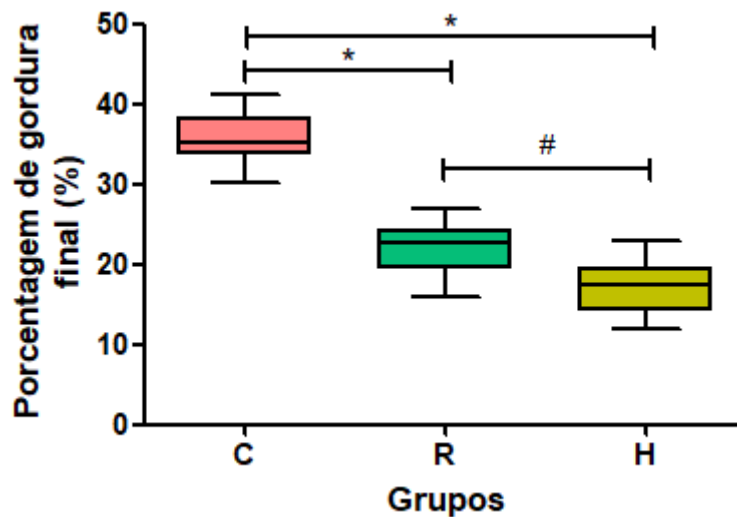


Figura 6: Porcentagem de gordura final. Grupo Controle (C); Grupo Restrição (R); Grupo Hiperproteico (H); * = Diferença significativa em relação ao grupo controle com $p < 0,05$. # = Diferença significativa entre os grupos de restrição $p < 0,05$.

Ao início do experimento, os três grupos apresentavam porcentagem de gordura semelhante. De forma esperada, ao final do experimento, os grupos com restrição calórica R e H apresentaram menor porcentagem de gordura. Entretanto, além da diferença significativa em

comparação ao grupo C ($35,5 \pm 3,2\%$), os grupos R ($21,9 \pm 3,4\%$) e H ($17,3 \pm 3,5\%$) também apresentaram diferença entre si, sendo H o grupo com a menor porcentagem.

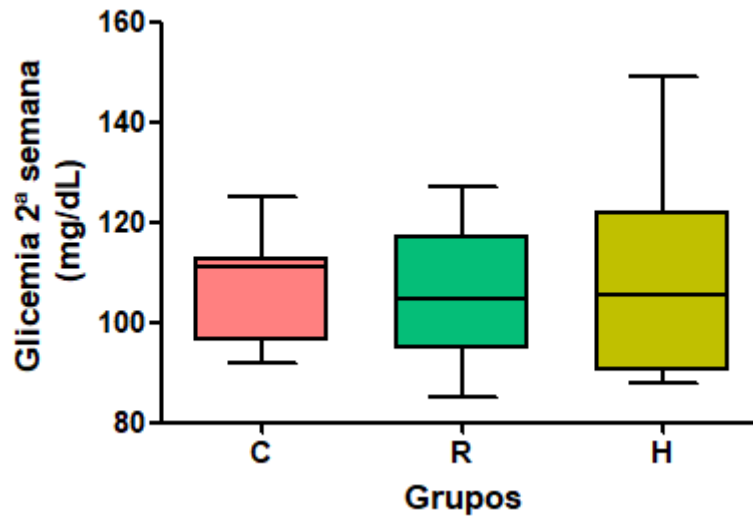


Figura 7: Glicemia no início da 2ª semana de intervenção. Grupo Controle (C); Grupo Restrição (R); Grupo Hiperproteico (H).

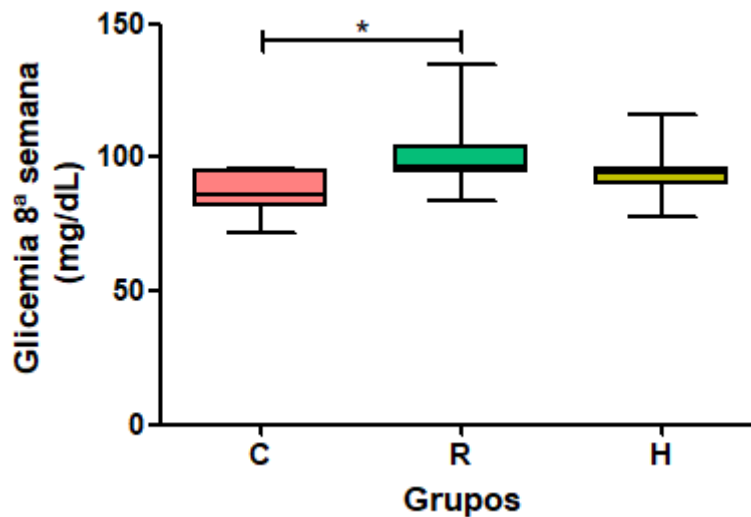


Figura 8: Glicemia Final. Grupo Controle (C); Grupo Controle (C); Grupo Restrição (R); Grupo Hiperproteico (H); * = Diferença significativa em relação ao grupo controle com $p < 0,05$.

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os valores de glicemia basal dos animais. Porém, houve diferença significativa em relação a glicemia final entre os grupos C ($86,7 \pm 8,1\text{mg/dL}$) e R ($100,3 \pm 13,7\text{mg/dL}$).

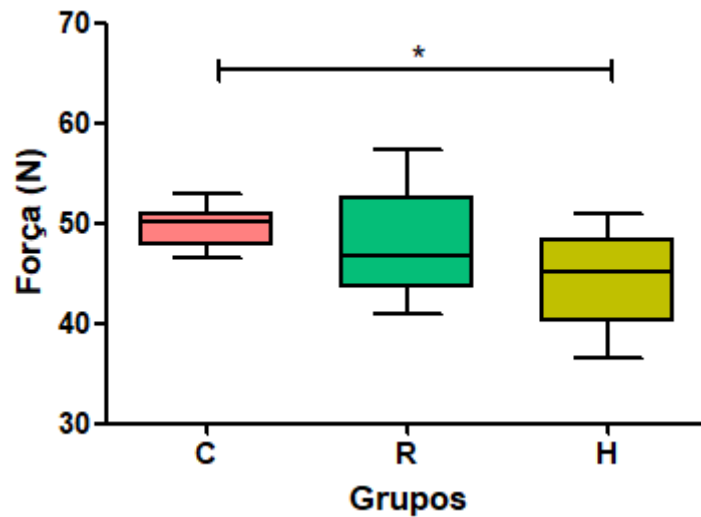


Figura 9: Ensaio de flexão em 3 pontos. Grupo Controle (C); Grupo Restrição (R); Grupo Hiperproteico (H); * = Diferença significativa em relação ao grupo controle com $p < 0,05$.

O grupo H ($44,1 \pm 4,4N$) apresentou menor força necessária para fratura no ensaio de flexão em 3 pontos significativa apenas em comparação ao grupo C ($49,6 \pm 2,0N$), sem diferença significativa comparado ao grupo R ($47,9 \pm 5,1N$).

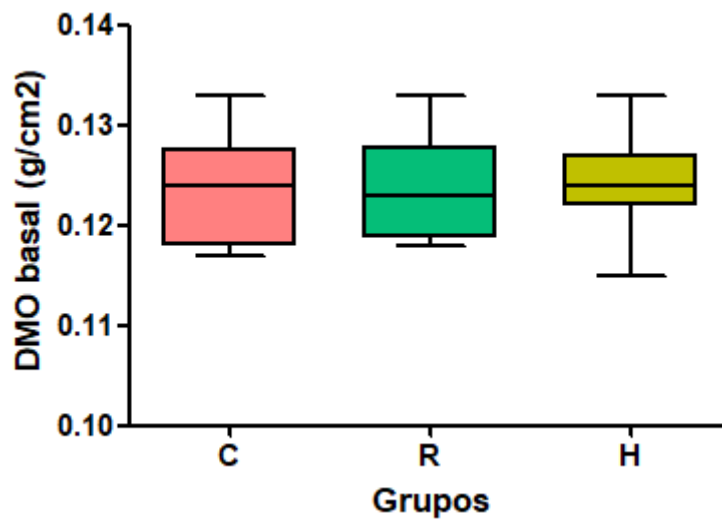


Figura 10: Densidade mineral óssea basal. DMO: Densidade Mineral Óssea; Grupo Controle (C); Grupo Restrição (R); Grupo Hiperproteico (H).

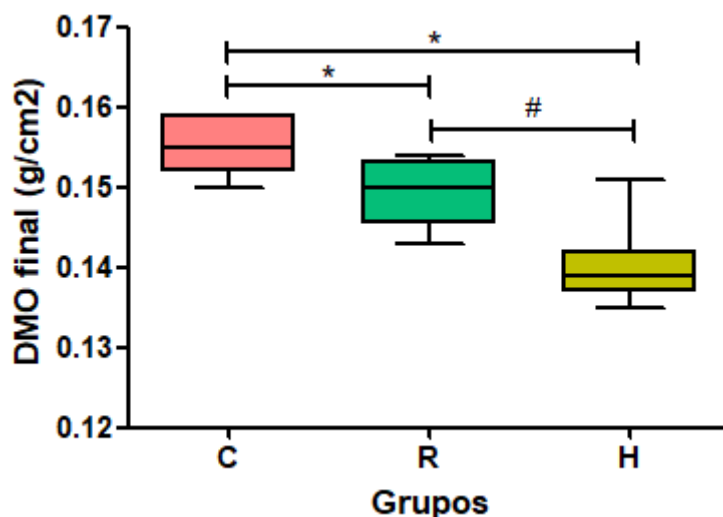


Figura 11: Densidade mineral óssea final. DMO: Densidade Mineral Óssea; Grupo Controle (C); Grupo Restrição (R); Grupo Hiperproteico (H). * = Diferença significativa em relação ao grupo controle com $p < 0,05$; # = Diferença significativa entre os grupos de restrição $p < 0,05$.

Ao final do experimento, podemos observar menor densidade mineral óssea nos grupos submetidos à restrição calórica em comparação ao grupo C ($0,155 \pm 0,003\text{g/cm}^2$). Além disso, o grupo H ($0,140 \pm 0,005\text{g/cm}^2$) teve menor valor de densidade mineral óssea também em comparação ao grupo R ($0,149 \pm 0,004\text{g/cm}^2$).

Discussão:

Mudanças na proporção entre os macronutrientes são muito utilizadas nas dietas para perda de peso para tratamento de comorbidades. Já é bem descrito na literatura que a perda de peso está relacionada com a diminuição da massa óssea, como pode ser observado na anorexia nervosa, por exemplo (MISRA, 2003).

A influência da composição da dieta no peso dos animais deve ser avaliada de acordo com a evolução ponderal ao longo do experimento como apresentado nas figuras 3 e 4. Não foi observada diferença significativa no ganho de peso do grupo H em comparação ao grupo R, demonstrando que o ganho ponderal dos animais em restrição calórica independe do conteúdo proteico da dieta. Evidências demonstram efeito sacietógeno das proteínas, maior gasto energético em jejum e maior efeito térmico alimentar comparado aos outros macronutrientes. Porém, é importante levar em consideração a capacidade adaptativa de um organismo à alta ingestão proteica no longo prazo e em quais quantidades e contextos esses efeitos são

observados com magnitude suficiente para impactar na perda de peso. LI J (2016) demonstrou que a ingestão proteica dentro da faixa de distribuição aceitável de macronutrientes (AMDR) durante 4 semanas por adultos com obesidade ou sobrepeso adaptados à restrição calórica alterou minimamente estes parâmetros.

Neste contexto, o presente trabalho realizou uma intervenção com alta proporção proteica na dieta do grupo H. Portanto os efeitos agudos de uma dieta hiperproteica citados anteriormente podem ter exercido influência no início da intervenção e impactado na porcentagem de gordura destes animais ao final do experimento. Essa hipótese poderia explicar parcialmente a diferença significativa encontrada entre todos os grupos ao final da intervenção, sendo H o grupo com a menor média de porcentagem de gordura corporal.

Sabe-se que a densidade mineral óssea (DMO) é um importante indicador da saúde óssea, sendo seus baixos valores associados a quadros de osteopenia e osteoporose (BOUXSEIN, 2019). A avaliação da densidade mineral óssea pela DXA basal se apresentou sem diferenças significativas entre os grupos. Porém, a avaliação final demonstrou diferenças entre todos os grupos. O grupo H apresentou a menor DMO, seguido pelos grupos R e C, respectivamente. São conhecidos diversos fatores que podem impactar a massa óssea de um indivíduo, entre eles o déficit calórico, consumo de proteínas, vitamina D, cálcio, peso corporal, atividade física entre outros (VILLAREAL, 2015; WALLACE, 2017; ZHU, 2020). Sabe-se que o déficit calórico a longo prazo pode promover a redução da massa óssea (VILLAREAL, 2015), em contrapartida o consumo adequado de proteínas é importante fator para a formação adequada dos ossos (WALLACE, 2017).

A literatura apresenta inconsistências em relação ao impacto de diferentes quantidades de conteúdo proteico dietético na massa óssea, inclusive quantidades que podem extrapolar as recomendações da AMDR. Esse fato merece destaque pois atualmente diversas abordagens nutricionais hiperproteicas são utilizadas para perda de peso visando explorar possíveis benefícios do excedente proteico, principalmente pelo efeito sacietógeno e de atenuar a perda de massa muscular. A hipótese é de que o maior conteúdo proteico dietético pode aumentar a síntese proteica muscular, que se encontra reduzida em uma dieta hipocalórica, de forma a reduzir a perda de massa muscular durante o processo de perda de peso (PASIAKOS, 2013; WYCHERLEY, 2012). A proteína também é importante para o desenvolvimento e manutenção da massa óssea. Logo, seria esperado que o maior conteúdo proteico da dieta pouparia a degradação dos tecidos muscular e ósseo (WALLACE, 2017). Porém, os resultados desse trabalho demonstram justamente o contrário, com o grupo H possuindo a menor DMO ao final do experimento. A avaliação da qualidade óssea dos animais, como a microarquitetura

óssea, poderia complementar com dados adicionais os resultados apresentados aprofundando a análise com a combinação de parâmetros quantitativos e qualitativos.

O conjunto de resultados deste trabalho vai em direção à conclusão de que o excedente proteico em uma dieta para perda de peso pode ser prejudicial a massa óssea, apesar da redução da porcentagem de gordura corporal. Existe a hipótese de que maior ingestão proteica pode promover aumento da carga ácida no organismo exigindo formas adicionais de tamponamento, como por meio da utilização do cálcio sérico livre. Desta forma, o excesso proteico poderia aumentar a excreção de cálcio pela urina (CUENCA, 2015).

Porém outros aspectos devem ser considerados para tal interpretação. Como dito anteriormente, diversos fatores impactam na quantidade de massa óssea. Pode-se apontar que os animais não estavam em um ambiente enriquecido, fato que pode levar à redução dos níveis de atividade física e os colocarem em uma condição de sedentarismo, o qual é reconhecidamente um fator deletério para a massa óssea. Adicionalmente podemos notar que o conteúdo proteico da dieta foi equivalente a 40% de sua energia total, valor que supera o dobro dos 14% encontrado em uma ração padrão. Logo, com uma certa liberdade de equivalência, pode-se deduzir que para um ser humano essa quantidade supere a faixa máxima de 30% recomendada pela AMDR, de forma a não ser coerente com a realidade de um indivíduo comum.

Conclusão

Os resultados demonstram que uma dieta hipocalórica e hiperproteica promove redução da densidade mineral óssea de ratas adultas não obesas, sugerindo que o excesso de proteínas na dieta potencializa a perda de massa óssea causada pela restrição calórica, apesar da maior redução de gordura corporal. Mais investigações acerca do tema devem ser realizadas para investigar a influência de diferentes conteúdos proteicos, níveis de atividade física e intensidade e duração de restrição calórica neste desfecho. Desta forma será possível aprofundar o conhecimento acerca dos níveis de regulação do metabolismo ósseo e mineral relacionados ao excedente proteico dietético. Além disso, é fundamental avaliar em conjunto os impactos não somente no quantitativo ósseo, mas também no qualitativo.

Referências bibliográficas

Bouxsein ML, et al.; FNIH Bone Quality Project. Change in Bone Density and Reduction in Fracture Risk: A Meta-Regression of Published Trials. **J Bone Miner Res.** 2019 Apr;34(4):632-642. doi: 10.1002/jbmr.3641. Epub 2019 Jan 23. PMID: 30674078.

Cuenca M, et al. Controversies surrounding high-protein diet intake: satiating effect and kidney and bone health. **Adv Nutr.** 2015 May 15;6(3):260-6. doi: 10.3945/an.114.007716. PMID: 25979491; PMCID: PMC4424780.

Li J, et al. Effects of Dietary Protein Source and Quantity during Weight Loss on Appetite, Energy Expenditure, and Cardio-Metabolic Responses. **Nutrients.** 2016 Jan 26;8(2):63. doi: 10.3390/nu8020063. PMID: 26821042; PMCID: PMC4772027.

MISRA M, et al. Regional body composition in adolescents with anorexia nervosa and changes with weight recovery. **Am J Clin Nutr.**, v. 77, n. 6, p. 1361–1367, June 2003.

Pasiakos SM, et al. Effects of high-protein diets on fat-free mass and muscle protein synthesis following weight loss: a randomized controlled trial. **FASEB J.** 2013 Sep;27(9):3837-47. doi: 10.1096/fj.13-230227. Epub 2013 Jun 5. PMID: 23739654.

Reeves PG et al. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. **J Nutr.** 1993 Nov;123(11):1939-51. doi: 10.1093/jn/123.11.1939. PMID: 8229312.

Sartori R et al. Mechanisms of muscle atrophy and hypertrophy: implications in health and disease. **Nat Commun.** 2021 Jan 12;12(1):330. doi: 10.1038/s41467-020-20123-1. PMID: 33436614; PMCID: PMC7803748.

Tremmel M et al. Economic Burden of Obesity: A Systematic Literature Review. **Int J Environ Res Public Health.** 2017 Apr 19;14(4):435. doi: 10.3390/ijerph14040435. PMID: 28422077; PMCID: PMC5409636.

Turner CH. **Bone Strength : Current Concepts.** 2006;446:429–46.

Villareal DT, et al.; CALERIE Study Group. Effect of Two-Year Caloric Restriction on Bone Metabolism and Bone Mineral Density in Non-Obese Younger Adults: A Randomized Clinical Trial. **J Bone Miner Res.** 2016 Jan;31(1):40-51. doi: 10.1002/jbmr.2701. Epub 2015 Sep 24. PMID: 26332798; PMCID: PMC4834845.

Wallace TC, Frankenfeld CL. Dietary Protein Intake above the Current RDA and Bone Health: A Systematic Review and Meta-Analysis. **J Am Coll Nutr.** 2017 Aug;36(6):481-496. doi: 10.1080/07315724.2017.1322924. Epub 2017 Jul 7. PMID: 28686536.

Wycherley TP et al. Effects of energy-restricted high-protein, low-fat compared with standard-protein, low-fat diets: a meta-analysis of randomized controlled trials. **Am J Clin Nutr.** 2012 Dec;96(6):1281-98. doi: 10.3945/ajcn.112.044321. Epub 2012 Oct 24. PMID: 23097268.

Zhu X, Zheng H. Factors influencing peak bone mass gain. **Front Med.** 2021 Feb;15(1):53-69. doi: 10.1007/s11684-020-0748-y. Epub 2020 Jun 9. PMID: 32519297.