

## ASSOCIAÇÃO ENTRE MASSA ÓSSEA E ESTRESSE OXIDATIVO: ANÁLISE DE MARCADORES SÉRICOS E DADOS EPIDEMIOLÓGICOS.

### *ASSOCIATION BETWEEN BONE MASS AND OXIDATIVE STRESS ANALYSIS OF SERUM MARKERS AND DATA EPIDEMIOLOGICAL.*

Lohanna **STRAUHS-NITSCH**<sup>2</sup>, Flamarion Batista dos **SANTOS**<sup>1</sup>, Roberto **KOMPATSCHER**<sup>1</sup>, Luiz Fernando **GROCOSKI**<sup>1</sup>, Thelma Larocca **SKARE**<sup>1</sup>, Cássio **ZINI**, Mothy **DOMIT FILHO**<sup>1</sup>, Sérgio Ricardo **PENTEADO FILHO**<sup>1</sup>, Antônio Carlos Moreira **AMARANTE**<sup>1</sup>, Sandra **MARTIN**<sup>1</sup>.

Rev. Méd. Paraná/1397

Strauhs-Nitsch L, Santos FB, Kompatscher R, Grocoski LF, Skare TL, Zini C, Domit Filho M, Penteado Filho SR, Amarante ACM, Martin S. Associação entre Massa Óssea e Estresse Oxidativo: Análise de Marcadores Séricos e Dados Epidemiológicos. Rev. Méd. Paraná, Curitiba, 2016;74(1):33-36.

**RESUMO** - Objetivo: Avaliar a relação entre a massa óssea e marcadores séricos de estresse oxidativo/ antioxidação (bilirrubina total/frações e ácido úrico), bem como averiguar a associação entre tais variáveis e outros dados que interferem na massa óssea (idade, alcoolismo, tabagismo, raça, tempo de menopausa e histórico de fraturas). Dosagem de aminotransferases e de enzimas canaliculares foram usadas como marcadores de integridade hepática. Método: Foram selecionados 105 pacientes. A análise do índice de massa óssea foi feita pela verificação dos escores Z, T e g/cm<sup>2</sup> (BMD) em fêmur total e coluna vertebral lombar por densitometria pelo método DEXA. Resultados: Foram encontradas correlações entre bilirrubina direta e: T-score (p = 0,0004) e BMD (p=0,0177) de coluna lombar. Também houve correlação entre a bilirrubina total e o T-score de quadril (p= ,0239). Os estudos de correlação entre massa óssea e bilirrubina indireta e com ácido úrico não obtiveram resultado significativo (p=ns). Conclusão: Existe associação entre bilirrubina total e bilirrubina direta com massa óssea, mostrando que o prejuízo de massa óssea está associado com consumo destes marcadores.

**DESCRITORES** - Massa óssea, Estresse oxidativo, Ácido úrico, Bilirrubinas.

## INTRODUÇÃO

Os ossos não são estruturas inertes, de metabolismo estático. Seu arcabouço está em constante renovação e uma série de fatores pode influenciar sua dinâmica, como questões hormonais, metabólicas ou mecânicas<sup>(1)</sup>. A investigação de fatores que interfiram com a massa óssea tem motivado cada vez mais estudos por parte da comunidade científica, uma vez que a tendência ao envelhecimento da população a nível mundial tem colocado este tipo de assunto em voga e o seu papel nas doenças geriátricas é fundamental<sup>(1)</sup>.

A osteopenia e a osteoporose figuram entre as enfermidades ósseas mais prevalentes do mundo e são condições quase que inerente ao aumento da longevidade, sendo que cerca de 40% das mulheres e 20% dos homens terão alguma fratura relacionada

à osteoporose durante a vida<sup>(2)</sup>. Todavia elas não se devem só ao envelhecimento. O grande elemento determinante para o aparecimento de osteopenia ou osteoporose em um indivíduo é a reserva de massa óssea adquirida durante a juventude<sup>(1)</sup>. Sobre a massa óssea influem fatores variados e multifatoriais, indo desde doenças genéticas, como a osteogênese imperfeita, até fatores comportamentais, como o alcoolismo e o tabagismo<sup>(1,3,4)</sup>. Fatores de risco para baixa massa como etnia, gênero, nutrição, perfil hormonal e atividade física figuram entre eles<sup>(1)</sup>.

O estresse oxidativo também é apontado pela literatura como um fator de influência na massa óssea<sup>(5)</sup> embora tenha sido parcamente estudado. Ele advém de produção de radicais livres de oxigênio que superam a capacidade de antioxidação do orga-

Trabalho realizado no Hospital Universitário Evangélico de Curitiba, Curitiba, PR, Brasil.

1 - Professor do Curso de Medicina da Faculdade Evangélica do Paraná, Curitiba, PR, Brasil.

2 - Médica do Hospital Universitário Evangélico de Curitiba, Curitiba, PR, Brasil.

nismo e que, com o tempo, acabam por lesar as estruturas celulares<sup>(3)</sup>. Tal estresse é considerado inerente tanto a algumas enfermidades quanto ao envelhecimento natural e promove maior diferenciação osteoclástica e consequente maior reabsorção óssea. Assim sendo ele seria um fator de considerável importância no estudo da massa óssea e das doenças que dela provém<sup>(5,6)</sup>.

Dentre os marcadores séricos do estado oxidativo, o ácido úrico tem ganhado destaque na literatura<sup>(3)</sup>. Este é um produto da degradação das purinas pela enzima xantina-oxidase e tem sido historicamente associado a situações em que se vê aumento de estresse oxidativo, como a lesão endotelial (assim tendo papel importante em doenças cardiovasculares, renais e metabólicas) além de estar sabidamente implicado na etiologia da gota e de cálculos renais quando em sua forma cristalina<sup>(4,7)</sup>. Entretanto, o papel biológico da forma solúvel do ácido úrico tem levantado controvérsias. Alguns estudos têm lhe atribuído papel antioxidante de importância quando considerada a BMD<sup>(4)</sup>. Exemplos disto estão nos estudos de Nabipour et al<sup>(7)</sup>, Makovey et al<sup>(4)</sup>, onde altos níveis de ácido úrico sérico foram relacionados com melhores índices de massa óssea, e consequentemente menos fraturas.

Outro marcador de estresse oxidativo são as bilirrubinas, e o estado de hiperbilirrubinemia não-conjugada também parece influenciar o metabolismo ósseo. Tal hipótese foi levantada ao se observar que portadores de doenças crônicas hepáticas, onde há o prejuízo da depuração hepatobiliar de bilirrubinas e ácidos biliares, estavam mais propensos a desenvolver osteoporose e fraturas<sup>(2)</sup>. Em estudos subsequentes demonstrou-se que, enquanto os ácidos biliares conjugados não influenciavam a atividade mitótica de osteoblastos, a bilirrubina não-conjugada diminuía significativamente tal atividade<sup>(8,9)</sup>. Em um estudo piloto realizado por Buhler et al<sup>(2)</sup> em pacientes com síndrome de Gilbert, foi demonstrada a associação entre hiperbilirrubinemia indireta e decréscimo de massa óssea femoral e de quadril, justificando a realização de mais estudos sobre o tema em outros tipos de população. Já os estudos de Bian et al<sup>(10)</sup> tem ressaltado o papel antioxidante que os níveis de bilirrubina total e mostrado uma possível associação inversa entre os níveis deste produto metabólico e a presença de osteoporose<sup>(10)</sup>.

Como demonstrado, o foco em marcadores que influenciam a massa óssea cresce com as demandas inerentes às patologias de uma população mais longeva. No Brasil, a população tem seguido as tendências mundiais de aumento de sobrevida e altos índices de envelhecimento. O diagnóstico médico de osteoporose está presente em até 6% da população acima de 40 anos<sup>(11)</sup>. Entretanto a população brasileira é peculiar pelo alto índice de miscigenação étnica, sendo necessários estudos locais para estabelecimento de evidências a ela aplicáveis. Pesquisas sobre a influência dos marcadores de estresse oxidativo na massa óssea em nossa população são ausentes. Portanto, é de considerável

importância que estudos nessa área sejam realizados, a fim de obterem-se dados relevantes sobre o tema, objetivando uma melhor qualidade de vida para a nossa população.

Neste trabalho procurou-se avaliar a natureza da relação entre a massa óssea de pacientes acompanhados no ambulatório de Osteoporose do Hospital Universitário Evangélico de Curitiba (HUEC) e os seguintes marcadores séricos de estresse oxidativo e antioxidação: (a)- bilirrubina total e frações; (b)- ácido úrico

## METODOLOGIA

Para a amostragem inicial convencional para este estudo seria de 100 pacientes acompanhados no Ambulatório de Osteoporose do HUEC. Foram excluídos os seguintes grupos de pacientes, para a validação do objetivo da pesquisa e redução do número de vieses: (a) em uso de medicamentos que alterem o valor do ácido úrico; (b)- em uso de medicamentos anticonvulsivantes ou outros que alterem o metabolismo da vitamina D; (c) gota ou outra doença inflamatória crônica reumática. O aceite de participação no projeto foi efetuado por meio de termo de consentimento livre e esclarecido, em anexo.

Os dados epidemiológicos necessários à pesquisa foram coletados por meio de revisão de prontuários e aplicação de um questionário com perguntas objetivas aos pacientes para verificação de dados dos mesmos e de existência de comorbidades.

A análise do índice de massa óssea foi verificada por meio dos escores Z, T e g/cm<sup>2</sup> em fêmur total e coluna vertebral lombar, obtidos pelo exame de densitometria óssea por raio X de energia dupla (DEXA). Neste exame, os seguintes pontos de corte são estabelecidos para as definições de osteopenia e osteoporose, e foram os valores adotados para este trabalho:

Escore T até - 1 desvio padrão (DP): resultado normal

Escore T abaixo de - 1 até -2,5 DP: osteopenia

Escore T abaixo de - 2,5 DP: osteoporose

Após a verificação das informações iniciais, foram coletados os resultados os seguintes parâmetros bioquímicos; bilirrubina total e frações; ácido úrico; aminotransferases; fosfatase alcalina e gama GT; velocidade de hemossedimentação e proteína C reativa.

Após a obtenção dos resultados, realizou-se a análise estatística referentes aos objetivos. Dados nominais tiveram sua associação verificada pelos testes de Fisher e qui-quadrado e os numéricos pelo T de student não pareado e Mann Whitney. Correlações foram estudadas pelos teste de Pearson ou Spearman de acordo com a distribuição da amostra obtida. Significância adotada de 5%.

## RESULTADOS

A amostra estudada constituiu-se de 105 pacientes. Destes, 3/105 eram homens e 102/105 mulheres, com idades entre 39-84 anos (média de 66,10  $\pm$ 8.63). Nas mulheres, o tempo de menopausa variou de 1 a 48 anos (mediana de 18,0 - IQR= 12,0-48,0) anos. 11/105 (10,4%) pacientes eram afrodescendentes e 94/105 (89,6%) caucasianas. 26/105 (24,7%) foram expostas ao fumo e 30/105 (28,5%) tinham histórico de fratura.

As variações dos resultados de exames laboratoriais dos pacientes acompanhados podem ser observados nas tabelas abaixo:

TABELA 1: RESULTADOS DOS EXAMES LABORATORIAIS

VARIÁVEIS	MEDIANA	IQR
Bilirrubina Total	0,5	0,4 - 0,7
Fração indireta	0,3	0,2 - 0,45
Fração direta	0,2	0,1 - 0,3
TGO	23,0	21,0 - 29,0
TGP	26,0	23,0 - 31,0
GGT	30,0	22,0-40,0
VHS	24,0	10,0 - 37,0
PCR	19,0	6,9-15,2

ABREVIATURAS: GGT = Gamaglutiltransferase; VHS=Velocidade de Hemossedimentação; PCR = Proteína C reativa

Para manter a fidedignidade do estudo, os pacientes com valores alterados de TGO e TGP foram excluídos da análise de bilirrubina total e frações, entrando apenas na análise em relação ao ácido úrico.

TABELA 2: RESULTADOS DOS EXAMES LABORATORIAIS

VARIÁVEIS	MÉDIA	DESVIO-PADRÃO
Ácido úrico	4,80	1,40
Fosfatase Alcalina	75,2	19,72

Os parâmetros de densitometria também foram analisados e tabelados, conforme mostrado na tabela 3:

TABELA 3: RESULTADOS DAS DENSITOMETRIAS

VARIÁVEIS	TSCORE	MÉDIA	ZSCORE	MÉDIA	G/CM2	MÉDIA
Fêmur	- 3,900 a + 1,800	-1,461 $\pm$ 1,073	-4,240 a +2,600	-0,515 $\pm$ 1,333	0,415 a 1,0 00	0,709 $\pm$ 0,1194
Coluna Lombar	- 4,900 - +3,200	- 2,100 (mediana)	-3,700 -3,000	- 0,725 $\pm$ 1,354	0,536 -1,167	0,895 (mediana)

Uma vez correlacionados os parâmetros laboratoriais e de densitometria óssea avaliados por este estudo, foram encontradas correlações estatisticamente significativas entre bilirrubina direta e: T-score ( $p = 0,0004$ ) e BMD ( $p=0,0177$ ) de coluna lombar. Também houve correlação entre a bilirrubina total e o T-score de coluna lombar ( $p = 0,0239$ ).

## DISCUSSÃO

Concordante com o anteriormente expresso na literatura, a população deste estudo mostrou o forte componente feminino na avaliação da osteoporose, expressando ainda um significativo número de fraturas (28,5%) nos pacientes estudados. Também percebe-se a maioria caucasiana, um grupo de risco embasado pela literatura, porém deve salvaguardar-se a predominância caucasiana observada na região Sul do país.

Na análise dos resultados sob o contexto laboratorial e de densitometria percebeu-se que um aumento da bilirrubinemia direta e total teve papel estatisticamente significativo quando correlacionada ao T-score de coluna lombar, um parâmetro importante na avaliação de massa óssea.

O T-score representa o desvio padrão da massa óssea do paciente quando considerado um adulto jovem e saudável do mesmo sexo, tendo assim papel crucial na avaliação da massa óssea de um indivíduo. O resultado apresentado encontra suporte na literatura atual nos estudos de Bian et al (2013), onde a bilirrubinemia total foi considerada como tendo papel de diminuição do estresse oxidativo e, portanto, correlacionada com maior massa óssea<sup>(2)</sup>.

Tal papel antioxidante da bilirrubina total ainda não está totalmente compreendido, mas postula-se que a bilirrubina total seja capaz de suprimir a oxidação de lipoproteínas de baixa densidade e outros lipídios, reduzindo a formação de radicais livres, um importante fator prejudicial à massa óssea<sup>(10)</sup>.

Também argumenta-se que um aumento de bilirrubina total e direta estaria diretamente relacionada à um aumento no cálcio sérico, o que poderia justificar uma menor ocorrência de osteoporose<sup>(6,7,9)</sup>. Outros estudos também demonstram uma possível diminuição das citocinas pró-inflamatórias na presença de bilirrubina total, o que poderia diminuir a perda de massa óssea nos pacientes<sup>(2)</sup>.

A hiperbilirrubinemia indireta e o ácido úrico, no entanto, não tiveram significância estatística quando correlacionada aos parâmetros de densitometria avaliados da população estudada. Tais conceitos vão de encontro aos estudos de Cervellati et al (2012) e Ostman (2009), que lhe atribuem propriedades antioxidantes. Porém, estes resultados não são inteiramente alheios à literatura. Estudos como o de Smith et al (2006) já questionaram o papel de antioxidação da bilirrubinemia indireta, não mostrando associação positiva ou negativa deste marcador com a mitose de osteoclastos e, portanto, com a massa óssea.

Em relação ao ácido úrico, uma explicação possível para isso foi levantada por Lin et al (2013), que argumenta que os efeitos antioxidantes deste marcador se dariam majoritariamente prevenindo a aterosclerose subclínica em pacientes selecionados, ou seja, com um papel indireto e de impacto reduzido no que tange a massa óssea.

Também há de se considerar que enquanto um aumento pequeno no nível de bilirrubinemia total (10nM) já exerce um potente efeito de proteção celular, o ácido úrico precisaria de uma concentração maior para agir na massa óssea, justificando um papel mais modesto na proteção à osteoporose<sup>(7)</sup>.

Neste estudo, não foi encontrada relação estaticamente significativa entre a massa óssea e bilirrubinemia indireta e ácido úrico, o que também é evidenciado pela literatura. Porém, estes resultados vão contra o demonstrado em alguns estudos recentes sobre o assunto, em que um aumento destes marcadores seria diretamente proporcional ao aumento da massa óssea.

Os estudos sobre estresse oxidativo e massa óssea são ainda escassos e recentes, porém vem ganhando

destaque na literatura. O presente estudo representa apenas uma parte da população sob risco de osteoporose acompanhada periodicamente, porém está na vanguarda dos estudos nacionais sobre o assunto e corrobora a preocupação crescente da comunidade científica com o envelhecimento ósseo na população. As associações demonstradas aqui servem de incentivo para que estudos agregando um maior número de pacientes e de marcadores de estresse oxidativo seja estudado.

A partir destes estudos, novos trabalhos poderão ser publicados na área a fim de esclarecer as várias incógnitas que ainda permeiam o assunto, trazendo não só uma melhor qualidade de vida para os pacientes, como também abrindo perspectivas para diagnósticos – e tratamentos – mais precoces.

---

Strauhs-Nitsch L, Santos FB, Kompatscher R, Grocoski LF, Skare TL, Zini C, Domit Filho M, Penteadó Filho SR, Amarante ACM, Martin S. Association Between Bone Mass and Oxidative Stress Analysis of Serum Markers and Data Epidemiological. *Rev. Méd. Paraná, Curitiba*, 2016;74(1):33-36.

**ABSTRACT** - Objective: To evaluate the relation between bone mass and serum markers of oxidative stress/oxidation (total bilirubin / fractions and uric acid), and investigate the association between these variables and other data that interfere with bone (age, alcoholism, smoking, race, time since menopause and history of fractures). aminotransferase dosage and GGT were used as liver integrity markers. Method: About 105 patients were selected. Analysis of bone mass index was made by checking the Z scores, and T g / cm<sup>2</sup> (BMD) in total hip and lumbar spine by densitometry by DEXA method. Results: Correlations were found between and direct bilirubin: T-score (p = 0.0004) and BMD (p = 0.0177) in the lumbar spine. There was also a correlation between total bilirubin and hip T-score (p = 0.0239). The correlation studies between bone mass and indirect bilirubin and uric acid did not obtain significant result (p = ns). Conclusion: There is an association between total bilirubin and direct bilirubin with bone mass, showing that the loss of bone mass is associated with consumption of these markers.

**KEYWORDS** - Bone mass, Oxidative stress, Uric acid, Bilirubin.

## REFERÊNCIAS

- Skare TL. *Reumatologia - Princípios e Práticas*. 2a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2007.
- Buhler J. Bone mineral densities in individuals with Gilbert ' s syndrome : A cross-sectional , case-control pilot study. 2009;23(6):431-6.
- Cervellati C, Bonaccorsi G, Cremonini E, Bergamini CM, Patella A, Castaldini C, et al. Bone mass density selectively correlates with serum markers of oxidative damage in post-menopausal women. *Clinical chemistry and laboratory medicine : CCLM / FESCC* [Internet]. 2012 May 23 [cited 2013 May 1];51(2):333-8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23089610>
- Makovey J, Macara M, Chen JS, Hayward CS, March L, Seibel MJ, et al. Serum uric acid plays a protective role for bone loss in peri- and postmenopausal women: a longitudinal study. *Bone* [Internet]. Elsevier Inc.; 2013 Jan [cited 2013 May 1];52(1):400-6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23111314>
- Sánchez-Rodríguez M a, Ruiz-Ramos M, Correa-Muñoz E, Mendoza-Núñez VM. Oxidative stress as a risk factor for osteoporosis in elderly Mexicans as characterized by antioxidant enzymes. *BMC musculoskeletal disorders* [Internet]. 2007 Jan [cited 2013 Apr 10];8:124. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2225394&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- Ostman B, Michaëlsson K, Helmersson J, Byberg L, Gedeberg R, Melhus H, et al. Oxidative stress and bone mineral density in elderly men: antioxidant activity of alpha-tocopherol. *Free radical biology & medicine* [Internet]. 2009 Sep 1 [cited 2013 May 1];47(5):668-73. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19500667>
- Nabipour I, Sambrook PN, Blyth FM, Janu MR, Waite LM, Naganathan V, et al. Serum uric acid is associated with bone health in older men: a cross-sectional population-based study. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research* [Internet]. 2011 May [cited 2013 May 1];26(5):955-64. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21541998>
- Janes CH, Dickson ER, Okazaki R, Bonde S, McDonagh A F, Riggs BL. Role of hyperbilirubinemia in the impairment of osteoblast proliferation associated with cholestatic jaundice. *The Journal of clinical investigation* [Internet]. 1995 Jun;95(6):2581-6. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=295940&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- Ruiz-Gaspá S, Martínez-Ferrer A, Guañabens N, Dubreuil M, Peris P, Enjuanes A, et al. Effects of bilirubin and sera from jaundiced patients on osteoblasts: contribution to the development of osteoporosis in liver diseases. *Hepatology* (Baltimore, Md.) [Internet]. 2011 Dec [cited 2013 May 1];54(6):2104-13. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21837749>
- Bian L-Q, Li R-Z, Zhang Z-Y, Jin Y-J, Kang H-W, Fang Z-Z, et al. Effects of total bilirubin on the prevalence of osteoporosis in postmenopausal women without potential liver disease. *Journal of bone and mineral metabolism* [Internet]. 2013 Apr 12 [cited 2013 May 1]; Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23579311>
- Catarina E, Ii DM, Caroline L, Carvalho D. Prevalência de diagnóstico auto-referido de osteoporose , Brasil , 2006 Prevalence of self-reported diagnosis of osteoporosis in Brazil , 2006. 2009;43(Supl 2):107-16.