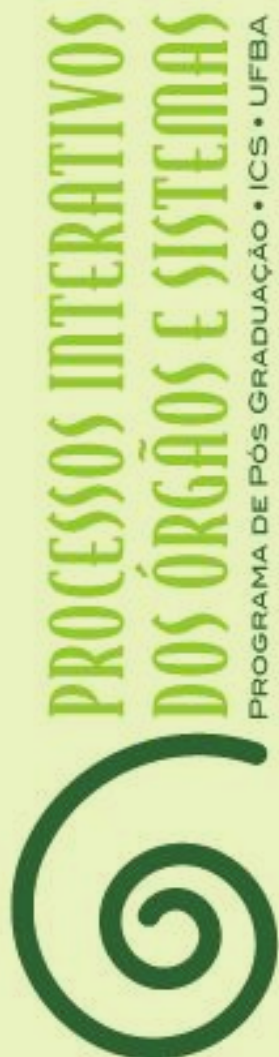


Daniela Oliveira de Almeida

**Associação entre Densidade Mineral Óssea,
Polimorfismos do Gene da Osteoprotegerina, do
Ligante do RANK, e Parâmetros Metabólicos e
Antropométricos em Idosas de Salvador, Bahia**



Salvador
2022



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PROCESSOS
INTERATIVOS DOS ÓRGÃOS E SISTEMAS**

**ASSOCIAÇÃO ENTRE DENSIDADE MINERAL ÓSSEA,
POLIMORFISMOS DO GENE DA OSTEOPROTEGERINA, DO
LIGANTE DO RANK, E PARÂMETROS METABÓLICOS E
ANTROPOMÉTRICOS EM IDOSAS DE SALVADOR, BAHIA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas, do Instituto de Ciências da Saúde, da Universidade Federal da Bahia, para fins de qualificação, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutora em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Denise Carneiro Lemaire.

Salvador
2022

A447 Almeida, Daniela Oliveira de.

Associação entre densidade mineral óssea, polimorfismos do gene da osteoprotegerina, do ligante do Rank, e parâmetros metabólicos e antropométricos em idosas de Salvador, Bahia/Daniela Oliveira de Almeida. – Salvador, 2022.

98 f.: il.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Denise Carneiro Lemaire.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal da Bahia, Instituto de Ciências da Saúde/Programa de Pós-graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas, 2022.

Inclui referências e anexos.

1. Densidade mineral óssea. 2. Osteoporose. 3. Envelhecimento. 4. Polimorfismo de nucleotídeo único (SNP). 5. Antropometria. 6. Peso Corporal. 7. Estradiol. 8. Colesterol. 9. Anti-hipertensivos. I. Lemaire, Denise Carneiro. II. Universidade Federal da Bahia. III. Título.

CDU 616.71-007.234-053.9(813.8)



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
Instituto de Ciências da Saúde



TERMO DE APROVAÇÃO DO DEFESA PÚBLICA DE TESE

DANIELA OLIVEIRA DE ALMEIDA

**ASSOCIAÇÃO ENTRE DENSIDADE MINERAL ÓSSEA, POLIMORFISMOS DO GENE
DA OSTEOPROTEGERINA, DO LIGANTE DO RANK, E
PARÂMETROS METABÓLICOS E ANTROPOMÉTRICOS EM IDOSAS DE SALVADOR,
BAHIA**

Salvador, Bahia, 25 de março de 2022.

COMISSÃO EXAMINADORA:

DocuSigned by:

8EE2C2A94E65431

PROFA. DRA. DENISE CARNEIRO LEMAIRE (Examinadora Interna)

DocuSigned by:

F16DDE5C982C7436

PROFA. DRA. MANUELA OLIVEIRA DE CERQUEIRA MAGALHÃES (Examinadora Interna)

DocuSigned by:

098708663D3942B

PROFA. DRA. ROSÂNGELA PASSOS DE JESUS (Examinadora Interna)

DocuSigned by:

26626E9A39C049C

PROFA. DRA. JOSECY MARIA DE SOUZA PEIXOTO (Examinadora Externa)

DocuSigned by:

07CDE326CC6A56

PROFA. DRA. JULIANA CÔRTE DE FREITAS (Examinadora Externa)

Dedico este trabalho a vó Zeza (in memoriam), vó Tina (in memoriam), e às mulheres da minha família, guerreiras e inspirações da minha vida.

AGRADECIMENTOS

A Deus, grande mãe e pai, regente do universo, por todas as bênçãos, conquistas e realizações alcançadas durante toda a minha vida pessoal, acadêmica e profissional.

Às voluntárias participantes desta pesquisa, pela confiança em mim e na equipe, e pelas experiências que me fizeram crescer como pessoa e como profissional da área de saúde.

A meu esposo, Luiz, pelo companheirismo, pela compreensão e por todo amor dado a mim, sempre ao meu lado na superação de todos os obstáculos.

A meus pais, João e Márcia, pelo apoio constante e pelo acolhimento, principalmente durante os “perrengues” desta vida.

A Dila, pelas inúmeras oportunidades no ramo acadêmico/científico, pela confiança, consideração e pelo acolhimento no GENUT/UNEB.

A Viviane, pela amizade, pelas confissões, suporte nessa jornada acadêmica e na execução direta deste trabalho.

A Luama, Radamés e Najara, por me acolherem em uma nova equipe e no grupo de pesquisa, e pelo suporte na execução deste trabalho.

Aos estudantes de IC, Andressa, Felipe, Sarah, Vivian, Herles, Dara, João, e toda equipe de nutrição do GENUT/UNEB pelo suporte na execução deste trabalho.

A Sônia e Toinho da UATI/UNEB pelo apoio, acolhimento e pela confiança na nossa equipe de pesquisa e no nosso trabalho.

Ao PIOS, por me dar oportunidade de realizar esta pesquisa, e à equipe da secretaria do PIOS, em especial Carlos, pelo carinho e suporte na resolução de problemas.

A toda equipe do CREASI, em especial Diana e Aleksandra, pela parceria que viabilizou a realização das densitometrias ósseas durante o período da pesquisa.

A equipe do LACTFAR, em especial Claudia Varjão, e as professoras Márcia Aquino e Neci Soares, pela parceria que viabilizou a realização dos exames de sangue das participantes da pesquisa, e pelas experiências acadêmicas que me fizeram crescer profissionalmente.

A dr. Gildásio da APAE, pela parceria que também viabilizou a realização deste trabalho.

Aos professores Marcos Almeida, Alexis Guedes, Domingos Rios e Arthur Dias pela parceria, pelas orientações e pelos ensinamentos, com valiosas contribuições para a construção deste trabalho.

A FAPESB, pelo apoio financeiro, que permitiu a execução deste trabalho.

A minha orientadora, Denise Lemaire, pela confiança desde a graduação, depois como

colega de trabalho e como pesquisadora. Durante esta trajetória, tive experiências que contribuíram para meu amadurecimento na docência e na pesquisa, as quais levarei por toda a minha vida.

Almeida DDe. Associação entre densidade mineral óssea, polimorfismos do gene da osteoprotegerina, do ligante do RANK, e parâmetros metabólicos e antropométricos em idosas de Salvador, Bahia [tese de doutorado]. Processos Interativos de Órgãos e Sistemas, Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia, 2022.

RESUMO

Introdução: A redução da densidade mineral óssea (DMO) que ocorre na osteoporose induz à fragilidade óssea e susceptibilidade à ocorrência de fraturas, principalmente em mulheres pós-menopáusicas e idosas. O sistema RANK/RANKL/OPG é mecanismo molecular central na determinação da DMO. Esse sistema está sob influência de diversos fatores, como dislipidemia, hiperglicemia, hipertensão e alterações no sistema imunológico e hormonal, os quais contribuem para o desenvolvimento da osteoporose. Contudo, estudos clínicos ainda são contraditórios, havendo achados com correlação positiva, negativa ou ausência de correlação entre esses fatores e perda óssea. Esta divergência pode ser atribuída, em parte, por variações genéticas entre os indivíduos e também por outros aspectos como ancestralidade e hábitos de vida. **Objetivo:** Investigar correlações entre DMO e polimorfismos do gene da osteoprotegerina (OPG) e do ligante do RANK (RANKL), e com parâmetros metabólicos e antropométricos em idosas matriculadas em uma unidade de ensino em Salvador-BA. **Métodos:** Trata-se de estudo de corte transversal, que incluiu 67 idosas, com idade ≥ 60 anos. Para coleta de dados, foi realizada uma entrevista com exame físico, para obtenção de informações sociodemográficas, clínicas e antropométricas. Foi feita a coleta de sangue venoso para dosagem sérica de hormônios, glicemia em jejum, hemoglobina glicada, colesterol total e frações, triglicerídeos, proteína C-reativa (PCR), dentre outras moléculas. A determinação da DMO (em g/cm^2) foi feita pelo exame de densitometria óssea do colo do fêmur e coluna lombar pela tecnologia DEXA. Os polimorfismos investigados foram rs2062377, rs3102735, rs6469804 do gene *TNFRSF11B* que codifica a OPG; e rs9594738, rs9525641 do *TNFSF11* que codifica o RANKL, sendo a genotipagem feita a partir de DNA genômico. A análise estatística dos dados foi realizada utilizando o software *Statistical Package for Social Sciences for Windows* versão 21.0. Nível de significância estatística considerado foi $p \leq 0,05$. **Resultados:** Dois artigos foram produzidos a partir desta pesquisa. **No artigo 1**, as variáveis antropométricas apresentaram correlação significativa com a DMO tanto do colo do fêmur quanto da coluna lombar. Outras variáveis que também apresentaram correlação foram colesterol total, LDL e estradiol com a DMO da coluna lombar, e PCR com a DMO do colo do fêmur. Na análise de regressão linear múltipla, as variáveis, peso corporal, estradiol e LDL, mostraram-se capazes de prever a variabilidade da DMO nos sítios ósseos investigados. **No artigo 2**, não observamos associação significativa entre os genótipos e alelos dos SNPs propostos neste estudo com DMO dos sítios ósseos investigados, apesar de os genótipos TT-rs9594738 e TT-rs9525641 apresentarem maiores valores de massa mineral óssea na coluna lombar e no colo de fêmur, respectivamente. Na regressão logística bivariada, observou-se que o uso de fármacos anti-hipertensivos reduziu as chances de as idosas apresentarem DMO baixa tanto no colo de fêmur quanto para coluna lombar de maneira significativa. **Conclusão:** Dentre todas as variáveis investigadas, o peso corporal e o estradiol exercem maior influência na determinação da massa mineral óssea do colo do fêmur, enquanto que o peso corporal e o LDL exercem maior influência na massa mineral da coluna lombar de idosas. Nenhum dos SNPs do

estudo parece contribuir para a variabilidade da DMO nos sítios ósseos investigados. Além disso, o uso de anti-hipertensivos parece ser o principal fator que reduz as chances de perda de DMO no colo do fêmur e na coluna lombar em idosas fisicamente ativas e de ancestralidade mista.

Palavras-chave: Densidade mineral óssea; Osteoporose; Envelhecimento; Polimorfismo de nucleotídeo único (SNP); Antropometria; Peso corporal; Estradiol; Colesterol; Anti-hipertensivos.

Almeida D Ode. Association among bone mineral density, polymorphisms of osteoprotegerin and RANK ligand genes, and metabolic and anthropometric parameters in elderly women in Salvador, Bahia [thesis doctorate]. Interactive Processes of Organs and Systems – Health Sciences Institute, Federal University of Bahia, 2022.

ABSTRACT

Introduction: The reduction in bone mineral density (BMD) due to osteoporosis induces bone fragility and susceptibility to fractures, especially in postmenopausal and elderly women. The RANK/RANKL/OPG system is a key molecular mechanism in the determination of BMD. It is under influence of several factors, such as dyslipidemia, hyperglycemia, hypertension and changes in the immune and hormonal system, which contribute to the development of osteoporosis. However, clinical studies are still contradictory, with findings showing a positive, negative or no correlation between these factors and bone loss. This divergence can be partially attributed to genetic variations between subjects and, also, to other factors such as ethnicity and life habits.

Objectives: It aims to investigate correlations among BMD, polymorphisms of the osteoprotegerin (OPG) and RANK ligand (RANKL) genes, and metabolic and anthropometric parameters in elderly women enrolled in an educational institute for elderly in Salvador-BA.

Methods: This is a cross-sectional study, which included 67 elderly women aged ≥ 60 years. For data collection, an interview followed by physical examination was performed to obtain sociodemographic, clinical and anthropometric information. Blood samples were collected for assessing serum levels of hormones, fasting glucose and Hb1AC, total cholesterol and fractions, C-reactive protein (CRP), and other molecules. The determination of BMD (in g/cm^2) was acquired by bone densitometry of femoral neck and lumbar spine by using DEXA technology. The investigated SNPs were rs2062377, rs3102735, rs6469804 from *TNFRSF11B* gene that encodes OPG; and rs9594738, rs9525641 from *TNFSF11* that encodes RANKL, and they were genotyped from genomic DNA. Statistical analysis was performed using the Statistical Package for Social Sciences for Windows, version 21.0. Statistical significance level considered was $p \leq 0.05$.

Results: Two papers were generated from this research. In **paper 1**, every anthropometric variable showed a significant correlation with BMD in both femoral neck and lumbar spine sites. In addition, total cholesterol, LDL and estradiol were correlated with lumbar spine BMD, while CRP was correlated with femoral neck BMD. In the multivariate linear regression analysis, body weight, estradiol and LDL were able to predict the variability of BMD in the investigated bone sites. In **paper 2**, we did not observe a significant association among the genotypic and allelic frequencies of any proposed SNP between individuals with normal BMD and low BMD of the investigated bone sites, despite the TT-rs9594738 and TT-rs9525641 have presented the highest values of mineral mass bone in the lumbar spine and femoral neck, respectively. In bivariate logistic regression, we observed that the use of antihypertensive drugs significantly reduced the chances of low BMD in both femoral neck and lumbar spine in elderly women.

Conclusion: Among all investigated variables, body weight and estradiol exert the greatest influence on the determination of femoral neck BMD, while body weight and LDL exert the greatest influence on lumbar spine BMD in elderly women. In addition, the use of antihypertensive drugs seems to be the main factor that reduces the odds of low BMD in femoral neck and lumbar spine in physical active elderly women of mixed ancestry.

Keywords: Bone mineral density; Osteoporosis. Aging; Single nucleotide

polymorphism (SNP); Anthropometry; Body weight; Estradiol; Cholesterol;
Antihypertensives.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURAS

| | | |
|-----------------|--|----|
| Figura 1 | Desenho esquemático do sistema RANKL/RANK/OPG na osteoclastogênese, e a influência de hormônios e citocinas na expressão das proteínas envolvidas nesse sistema..... | 27 |
| Artigo 1 | | |
| Figura 1 | Fluxograma com o desenho do estudo..... | 45 |
| Artigo 2 | | |
| Figura 1 | Fluxograma com o desenho do estudo..... | 62 |

QUADROS

| | | |
|-----------------|---|----|
| Quadro 1 | Informações sobre os SNPs rs2062377, rs3102735, rs6469804, rs9594738 e rs9525641..... | 34 |
| Quadro 2 | Exames de sangue para dosagem de hormônios e outras biomoléculas e seus respectivos métodos de análise e valores de referência..... | 38 |

LISTA DE TABELAS

ARTIGO 1

- Tabela 1** Dados sociodemográficos das voluntárias da pesquisa distribuídas em grupos de acordo com os resultados da densitometria óssea de colo de fêmur (DMO normal ou baixa) e de vértebras lombares L1-L4 (DMO normal ou baixa)..... 48
- Tabela 2** Comparação dos dados de exames bioquímicos e antropométricos entre o grupo de idosas com DMO normal (n=31) e DMO baixa (n=36) do colo do fêmur e com DMO normal (n=36) e DMO baixa (n=31) da coluna lombar (L1 a L4)..... 49
- Tabela 3** Correlação entre as variáveis investigadas nos exames bioquímicos de sangue e os valores de massa mineral óssea do colo de fêmur e da coluna lombar (L1-L4) de idosas de Salvador-BA..... 51

ARTIGO 2

- Tabela 1** Dados sociodemográficos e clínicos das voluntárias da pesquisa distribuídas em grupos de acordo com os resultados da densitometria óssea de colo de fêmur (DMO normal ou baixa) e de coluna lombar L1-L4 (DMO normal ou baixa)..... 67
- Tabela 2** Distribuição genotípica e alélica da população em estudo categorizada em grupo DMO normal e DMO baixa do colo do fêmur..... 70
- Tabela 3** Distribuição genotípica e alélica da população em estudo categorizada em grupo DMO normal e DMO baixa da coluna lombar (L1-L4)..... 70
- Tabela 4** Associação entre os genótipos dos SNPs do estudo com os valores de massa mineral óssea do colo do fêmur e da coluna lombar..... 71

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|----------------------------------|--|
| ΔT | Escore T da densitometria óssea |
| 1,25(OH) ₂ Vitamina D | 1,25 dihidroxi-vitamina D, ou colecalciferol |
| 25(OH)Vitamina D | 25 hidroxí-vitamina D, ou calciferol |
| ADAM | do inglês, a <i>desintegrin and metalloproteinase</i> |
| APAE | Associação de Pais e Amigos dos Excepcionais |
| CA | Circunferência abdominal |
| CB | Circunferência do braço |
| CEAD | Centro de Estudo e Atendimento Dietoterápico |
| CQ | Circunferência do quadril |
| CREASI | Centro de Referência Estadual de Atenção à Saúde do Idoso |
| CT | Colesterol total |
| DCV | Departamento de Ciências da Vida |
| DEXA | do inglês, <i>Dual Energy X-ray Absorptiometry</i> |
| DMO | Densidade mineral óssea |
| FSH | Hormônio folículo-estimulante |
| GENUT | Núcleo de pesquisa e extensão em genômica nutricional e disfunções metabólicas |
| GH | Hormônio do crescimento, ou somatotrofina |
| GWAS | Estudo de Associação <i>Genome Wide</i> |
| HAS | Hipertensão arterial sistêmica |
| Hb1AC | Hemoglobina glicada |
| HDL | Lipoproteína de alta densidade |
| HOMA-IR | Modelo de avaliação da homeostase da resistência à insulina |
| IBGE | Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística |
| IGF-1 | Fator de crescimento semelhante à insulina tipo I |
| IMC | Índice de massa corporal |
| LACTFAR | Laboratório de Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia |
| LDL | Lipoproteína de baixa densidade |
| MMP | Metaloproteinase de matriz |
| NF- κ B | Fator nuclear <i>kappa B</i> |

| | |
|------------------|--|
| OPG | Osteoprotegerina |
| PAM | Pressão arterial média |
| PCR | Proteína C-reativa |
| PTH | Paratormônio |
| QCT | Tomografia computadorizada quantitativa |
| RANK | Ativador do receptor do NF- κ B (do inglês <i>receptor activator of nuclear factor κB</i>) |
| RANKL | Ligante do ativador do receptor do NF- κ B |
| RT-PCR | Reação em cadeia da polimerase em tempo real |
| SNP | Polimorfismos de Nucleotídeo Único |
| SUS | Sistema Único de Saúde |
| TG | Triglicérides |
| <i>TNFRSF11A</i> | Gene que codifica o RANK |
| <i>TNFRSF11B</i> | Gene que codifica a OPG |
| <i>TNFSF11</i> | Gene que codifica o RANKL |
| TRH | Terapia de reposição hormonal |
| UATI | Universidade Aberta à Terceira Idade |
| UFBA | Universidade Federal da Bahia |
| UNEB | Universidade do Estado da Bahia |

SUMÁRIO

| | | |
|--------------|---|----|
| 1 | INTRODUÇÃO | 18 |
| 2 | JUSTIFICATIVA | 21 |
| 3 | OBJETIVO | 24 |
| 3.1 | OBJETIVO GERAL..... | 24 |
| 3.2 | OBJETIVOS ESPECÍFICOS..... | 24 |
| 4 | REFERENCIAL TEÓRICO | 26 |
| 4.1 | SISTEMA RANK/RANKL/OPG E SEU PAPEL NO METABOLISMO ÓSSEO... | 26 |
| 4.2 | OSTEOPOROSE: BASES MOLECULARES E FATORES DE RISCO..... | 27 |
| 4.3 | INTERAÇÃO ENTRE O SISTEMA ENDÓCRINO E METABOLISMO ÓSSEO. | 28 |
| 4.4 | INTERAÇÃO ENTRE O METABOLISMO DE GLICÍDIOS, LIPÍDIOS E O METABOLISMO ÓSSEO..... | 30 |
| 4.5 | OBESIDADE E METABOLISMO ÓSSEO..... | 31 |
| 4.6 | ASPECTOS GENÉTICOS DA PERDA DE DMO..... | 32 |
| 5 | MATERIAL E MÉTODOS | 36 |
| 5.1 | DELINEAMENTO DO ESTUDO..... | 36 |
| 5.2 | PARTICIPANTES DA PESQUISA DE PESQUISA..... | 36 |
| 5.3 | COLETA DOS DADOS DAS PARTICIPANTES DA PESQUISA..... | 36 |
| 5.3.1 | Entrevista e exame físico | 36 |
| 5.3.2 | Densitometria óssea | 37 |
| 5.3.3 | Coleta de sangue | 38 |
| 5.3.4 | Genotipagem de DNA genômico | 38 |
| 5.4 | ANÁLISE ESTATÍSTICA..... | 39 |
| 5.5 | CONSIDERAÇÕES ÉTICAS..... | 40 |
| 6 | RESULTADOS | 43 |
| 6.1 | ARTIGO 1- Efeito do Perfil Glicídico, Lipídico e Antropométrico na Densidade Mineral Óssea de Idosas de Ancestralidade Miscigenada..... | 43 |
| 6.2 | ARTIGO 2- Associação entre polimorfismos genéticos de nucleotídeo único dos genes da osteoprotegerina e RANKL e densidade mineral óssea em idosas de Salvador-BA..... | 60 |
| 7 | DISCUSSÃO | 78 |

| | | |
|----------|---|----|
| 8 | CONCLUSÃO | 81 |
| | REFERÊNCIAS | 82 |
| | APÊNDICE 1 – Questionário Sociodemográfico-clínico..... | 93 |
| | APÊNDICE 2 – Termo de Consentimento Livre Esclarecido..... | 97 |

Introdução

1 INTRODUÇÃO

O envelhecimento biológico, processo que ocorre desde o nascimento do indivíduo, é acompanhado de mudanças celulares e moleculares complexas e progressivas, com impacto na integridade de células, tecidos e órgãos de forma qualitativa e quantitativa. O termo senescência refere-se a um fenótipo complexo, no qual o somatório dos eventos biológicos manifesta-se com importantes alterações funcionais ao longo do tempo, provocando efeitos deletérios ao organismo ¹. Devido ao grande impacto que a senescência provoca na fisiologia de todos os sistemas de órgãos, o indivíduo idoso se torna mais susceptível a doenças crônicas, que levam a repercussões clínicas importantes na saúde e na qualidade de vida ^{2,3}.

A osteoporose, caracterizada por redução de massa óssea e comprometimento de sua microarquitetura, induz à fragilidade óssea e aumenta a susceptibilidade à ocorrência de fraturas tanto em homens quanto em mulheres, particularmente em idades mais avançadas ^{4,5}. A osteoporose contribui com altas taxas de morbimortalidade em idosos e com altos custos para o setor de saúde ⁵⁻⁷. Sua etiologia está associada a diversos fatores, dentre eles alterações metabólicas e endócrinas, decorrentes de fatores genéticos e/ou ambientais ⁸⁻¹⁰.

Alterações nos níveis séricos de alguns hormônios, como vitamina D, paratormônio (PTH) e insulina, bem como alterações metabólicas, são amplamente discutidas no meio científico como fatores que contribuem para a perda de massa mineral óssea ¹⁰⁻¹⁶. Contudo, estudos clínicos são paradoxais, havendo resultados mostrando correlação positiva, negativa e até mesmo achados sem qualquer correlação entre esses fatores e a osteoporose. Esta divergência pode ser atribuída, em parte, por variações genéticas entre os indivíduos.

A forma mais comum de variação no DNA entre os indivíduos é denominada de polimorfismo de nucleotídeo único (SNP, do inglês *single nucleotide polymorphism*), no qual há mutação na fita de DNA, com substituição de uma única base de nucleotídeo por outra ¹⁷. Essa substituição pode ser silenciosa, sem levar alterações no aminoácido codificado. No entanto, quando a substituição modifica o aminoácido codificado, influencia a atividade promotora do gene, diminui a estabilidade do RNA mensageiro, ou mesmo a eficiência da tradução proteica, ela configura risco para o desenvolvimento

de doenças para o indivíduo ¹⁸. Estudos com SNPs próximos ou inseridos em genes envolvidos com a regulação do metabolismo ósseo, a exemplo do sistema RANK/RANKL/OPG (RANK/ ligante do RANK /Osteoprotegerina), têm mostrado que determinados alelos podem conferir risco para o surgimento de doenças ósseas, como a osteoporose, em populações caucasianas e asiáticas ^{19,20}. Dados referentes a populações miscigenadas, como a população brasileira, especialmente na Bahia, ainda são escassos, necessitando de estudos que investiguem a contribuição genética na variabilidade da DMO nesse tipo de população.

Em virtude da existência de diversos fatores que influenciam o metabolismo ósseo e de resultados conflitantes na literatura científica, este estudo pretende verificar a presença de associação entre a DMO com polimorfismos do gene *TNFRSF11B* (rs2062377, rs3102735, rs6469804), que codifica a osteoprotegerina (OPG), do gene *TNFSF11* (rs9594738, rs9525641), que codifica o ligante do ativador do receptor do NF- κ B (RANKL), e com parâmetros metabólicos e antropométricos em idosas de Salvador, Bahia.

Justificativa

2 JUSTIFICATIVA

No Brasil, “idoso” é considerado qualquer pessoa cuja idade é igual ou superior a 60 anos, tendo seus direitos assegurados pelo Estatuto do Idoso, além da própria Constituição Nacional ²¹. Segundo os últimos censos (2000 e 2010) e as projeções populacionais do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), a população brasileira está passando por um processo de envelhecimento ²², o que é considerado pela demografia como um sinal de desenvolvimento do país. Com o aumento do número de idosos, há também aumento da ocorrência de determinados distúrbios e agravos desse grupo populacional, o que deve ser objeto de preocupação entre os profissionais da área da saúde.

A osteoporose é o distúrbio osteometabólico mais prevalente em idosos, sendo a causa principal de fratura em indivíduos nessa faixa etária, provocando impactos negativos em sua qualidade de vida ²³⁻²⁵. Idosos com fraturas vertebrais osteoporóticas têm menor qualidade de vida, devido à perda progressiva de mobilidade, da interação social, e devido à dor crônica, o que repercute nas funções mentais e na percepção que o indivíduo tem de sua própria saúde ^{26,27}.

A prevalência de fraturas osteoporóticas difere a depender da ancestralidade: indivíduos caucasianos apresentam maior risco de fraturas do que indivíduos afrodescendentes ²⁸. Estima-se que uma a cada duas mulheres caucasianas e um a cada cinco homens sofrerão pelo menos uma fratura óssea secundária à osteoporose, sendo o fêmur proximal e a coluna lombar locais típicos para a ocorrência de fraturas osteoporóticas durante a senescência ^{5,29}. Não há, no entanto, dados bem estabelecidos quanto à prevalência de osteoporose e de fraturas osteoporóticas em populações miscigenadas, como a população brasileira. Logo, é de grande importância a realização de estudos exploratórios que possibilitem a obtenção de dados para estimar esta prevalência.

No Brasil, pode-se obter informações quanto à ocorrência de internações secundárias a fraturas ósseas a cada ano, por unidades e municípios da Federação no *site* do Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde (SUS) ³⁰. Por exemplo, no ano de 2015, houve 50.909 (45,9%) de internações hospitalares por fraturas de fêmur em idosos (≥ 60 anos), número superior ao da população adulta na faixa etária de 20-59

anos, que foi de 46.330 (41,8%). Além disto, os gastos despendidos pelo SUS nos internamentos por fraturas de fêmur na população idosa no Brasil têm aumentado progressivamente a cada ano. Em 2015 e 2020, os custos com essas internações foram R\$122.018.407,30 e R\$169.874.826,00, representando, respectivamente, 48,0% e 52,1% do valor total gasto com internações por fraturas de fêmur, considerando todas as faixas etárias ³⁰. Em um estudo prévio, nosso grupo demonstrou que houve grande volume de internações por fraturas ósseas em idosos em Salvador-BA no ano de 2015, sendo os mais altos custos e a maior mortalidade hospitalar referentes às internações por fraturas de fêmur ³¹.

SNPs de genes relacionados ao metabolismo ósseo têm sido associados a doenças osteolíticas, como a osteoporose, contribuindo para a compreensão da patogênese e variabilidade das manifestações clínicas de distúrbios ósseos, muito frequentes na população idosa ^{19,20,32,33}. Determinados alelos de SNPs conferem risco para redução da DMO por alterar a conformação de proteínas sinalizadoras, ou por reduzir a velocidade de síntese de mediadores químicos envolvidos com o metabolismo ósseo ³⁴. Por isso, conhecer as frequências de alelos e genótipos de SNPs relacionados ao metabolismo ósseo, bem como a realização de estudos de associação entre estes SNPs com doenças ósseas são essenciais para a compreensão dos mecanismos fisiopatológicos de doenças complexas multifatoriais. Além disso, essas informações poderão auxiliar a equipe de saúde no estabelecimento de condutas terapêuticas individualizadas, centradas nas necessidades de cada pessoa.

Em síntese, observa-se que indivíduos idosos compõem um subgrupo populacional de alto risco de ocorrência de fraturas ósseas que têm elevado custo de tratamento e grande impacto biopsicossocial. A osteoporose subdiagnosticada poderia ser uma explicação razoável associada a este risco. A identificação de fatores de risco relacionados à osteoporose, sejam estes hormonais, metabólicos e/ou genéticos, é de reconhecida importância para o planejamento de ações em saúde, permitindo que a equipe de saúde faça uma abordagem mais humanizada e centrada nas necessidades específicas de cada indivíduo. Por isso, a população brasileira e os profissionais da área de saúde devem se estruturar para realização de diagnóstico de problemas, planejamentos e intervenções públicas no intuito de promover o envelhecimento saudável e oferecer melhor suporte em saúde a essa população.

Objetivos

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Investigar a associação entre a DMO e polimorfismos do gene *TNFRSF11B*, que codifica a osteoprotegerina (OPG), do gene *TNFSF11*, que codifica o ligante do ativador do receptor do NF- κ B (RANKL), e parâmetros metabólicos e antropométricos em idosas em Salvador, Bahia.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar a DMO do colo do fêmur e coluna lombar (vértebras L1-L4) da população de estudo, descrevendo a frequência de alterações osteometabólicas desta população.
- Identificar associação entre DMO e níveis séricos dos biomarcadores do metabolismo glicídico, lipídico e ósseo.
- Descrever os parâmetros antropométricos e possíveis correlações com a DMO.
- Descrever a frequência alélica e genotípica dos SNPs do gene da OPG (*TNFRSF11B*, rs2062377, rs3102735, rs6469804) e do RANKL (*TNFSF11*, rs9594738, rs9525641) na população de estudo, investigando possíveis associações com a DMO.

Referencial Teórico

4 REFERENCIAL TEÓRICO

4.1 SISTEMA RANK/RANKL/OPG E SEU PAPEL NO METABOLISMO ÓSSEO

A perda de massa óssea é decorrente do desequilíbrio entre a taxa de aposição e a taxa de reabsorção óssea com predominância do processo reabsortivo. Entre os mecanismos básicos de sinalização para a regulação da reabsorção óssea, tem-se o sistema molecular constituído pelas glicoproteínas RANK (do inglês *receptor activator of nuclear factor kB*), ligante de RANK (RANKL) e OPG (osteoprotegerina).

O RANK, codificado pelo gene *TNFRSF11A*, é uma proteína transmembrana homotrimérica pertencente à superfamília do receptor do TNF (fator de necrose tumoral), expressa em altos níveis pelos pré-osteoclastos e osteoclastos, células derivadas do sistema fagocítico mononuclear³⁵. Quando este receptor é ativado, há aumento da atividade da via de sinalização celular NF-κB (do inglês, *nuclear fator κB*), o que estimula a transcrição gênica em diversos tipos celulares.

O RANKL é uma proteína transmembrana do tipo II, codificada pelo gene *TNFSF11*, e é expressa por diversas células do sistema imunológico, bem como por osteoblastos, que são células da linhagem óssea produtoras de matriz óssea. A forma solúvel do RANKL é proveniente de *splicing* alternativo ou da clivagem proteolítica da forma transmembrana por metaloproteinases de matriz (MMPs e ADAMs)^{36,37}. A sinalização induzida por RANKL com o receptor RANK, presente nas células precursoras da linhagem osteoclástica, é essencial para a fusão e diferenciação de pré-osteoclastos em osteoclasto. O osteoclasto é uma célula multinucleada, e sua atividade biológica de degradar a matriz óssea e reabsorver os íons deste tecido depende da interação do RANKL com o RANK^{36,38,39}.

A OPG, codificada pelo gene *TNFRSF11B*, é uma glicoproteína da superfamília de receptores TNF, e é expressa de forma ubíqua em muitos tecidos e tipos celulares. A OPG solúvel é exportada para o meio extracelular sem nenhuma estrutura transmembrana e, sob a forma de homodímero, se liga ao RANKL, impedindo seu acoplamento ao RANK, o que leva à inibição da diferenciação e da ativação de osteoclastos^{36,40,41}. O equilíbrio entre RANKL e OPG modula o processo de reabsorção óssea, sendo que o aumento da razão RANKL/OPG no microambiente da medula óssea

é determinante para a osteoclastogênese, favorecendo a reabsorção óssea ³⁹. A **figura 1** ilustra o sistema RANK/RANKL/OPG e seu papel na osteoclastogênese.

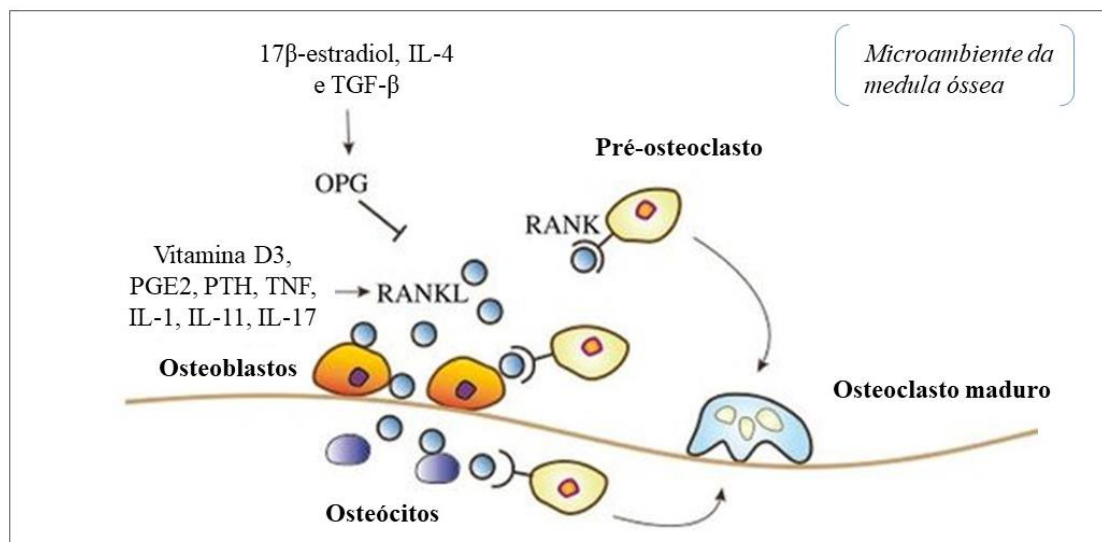


Figura 1. Desenho esquemático do sistema RANKL/RANK/OPG na osteoclastogênese, e a influência de hormônios e citocinas na expressão das proteínas envolvidas nesse sistema. Legenda: IL, interleucina; OPG, osteoprotegerina; PGE2, prostaglandina 2; PTH, paratormônio; RANK, ativador do receptor do fator nuclear *κB*; RANKL, ligante do ativador do receptor do fator nuclear *κB*; TGF-β, fator de crescimento transformante β; TNF, fator de necrose tumoral.

Fonte: Figura modificada de ⁴²

4.2 OSTEOPOROSE: BASES MOLECULARES E FATORES DE RISCO

A osteoporose primária é constituída de três categorias: juvenil, pós-menopáusicas e senil. A osteoporose pós-menopáusicas e a senil apresentam grande importância clínica e epidemiológica, devido à rápida perda de massa óssea ao longo de cada ano e pela crescente morbimortalidade em indivíduos idosos em países desenvolvidos e em desenvolvimento ^{5,43,44}.

A osteoporose pós-menopáusicas ocorre devido à redução substancial dos hormônios sexuais femininos, em especial o estrógeno, levando ao aumento da atividade osteoclástica e acentuada redução da atividade osteoblástica. Ossos com maior volume de tecido esponjoso, como vértebras e punho, ficam mais susceptíveis a fraturas osteoporóticas em mulheres pós-menopáusicas ^{9,29,43}.

Muitos estudos têm sido feitos para compreender os mecanismos envolvidos

com a osteoporose senil, que acomete idosos ⁴³. Um estudo prévio realizado em camundongos demonstrou que a expressão do sistema RANKL/RANK/OPG é diferente em animais velhos quando comparados a animais jovens. Os níveis de RNAm do RANKL aumentam com a idade (camundongos velhos > adultos > jovens), enquanto que os níveis de OPG decrescem (camundongos velhos < adultos < jovens), o que justifica o aumento da velocidade de perda óssea em indivíduos senis ⁴⁵. Além do aumento da expressão de RANKL, RANK, outros fatores parecem contribuir para o aumento da osteoclastogênese, como, por exemplo, o aumento de citocinas pró-osteoclastogênicas (como IL-6 e IL-1 β) no microambiente da medula óssea ⁴⁶. Adicionalmente, há menor síntese de matriz óssea, devido à redução da atividade osteoblástica. Essa redução ocorre devido ao decréscimo na secreção de hormônios envolvidos com metabolismo ósseo, como vitamina D, estradiol, GH e IGF-1, ou devido a menor atividade e resposta celular a esses hormônios. Ambos os fatores ocorrem tipicamente com a senescência, em decorrência do envelhecimento celular^{40,44,46}.

Existem vários fatores considerados de risco para desenvolvimento de osteoporose na literatura científica. Dentre eles incluem-se: i) o sexo feminino, em especial quando a função ovariana está reduzida, como, por exemplo, a menopausa; ii) ancestralidade branca e asiática, iii) história familiar, seja por conta de fatores genéticos, seja pelos membros de uma família adotarem um estilo de vida comum e que esteja associado ao maior risco de perda óssea, como sedentarismo, tabagismo e etilismo; e iv) inadequações dietéticas, como baixa ingestão de cálcio. A evidência de associação desses fatores como fatores de risco para a osteoporose é bastante discutida, sendo alguns bem documentados e outros necessitando de mais investigação ^{5,9,16,29,47,48}.

4.3 INTERAÇÃO ENTRE O SISTEMA ENDÓCRINO E METABOLISMO ÓSSEO

É documentado na literatura científica o efeito de alguns hormônios em estimular a síntese de matriz e manutenção da saúde óssea. Com a senescência, alguns sistemas endócrinos apresentam típica diminuição de sua atividade, o que pode contribuir com a redução da DMO em idosos. A secreção de hormônios sexuais gonadais (estrogênios e androgênios) promove síntese e manutenção de matriz óssea por estimular os

osteoblastos, e o declínio na secreção dessas biomoléculas com o envelhecimento contribui para a osteopenia e osteoporose na senescência^{49,50}.

Os hormônios sexuais, em especial, o estradiol, têm importante papel na manutenção da massa óssea⁵¹. Um ensaio clínico recente desenvolvido em ratas ovariectomizadas demonstrou que a redução dos níveis séricos de estradiol está associada a uma redução na expressão da OPG e a um aumento da expressão de RANKL quando comparadas a ratas *sham*, que foram submetidas aos mesmos procedimentos cirúrgicos, porém sem a retirada dos ovários⁵². Estudos clínicos com grau de evidência acompanharam mulheres na peri e pós-menopausa que fizeram uso da terapia de reposição hormonal (TRH) à base de estrógenos conjugados. Os resultados mostraram não apenas a atenuação dos sintomas vasomotores e urogenitais durante a menopausa, mas também redução da perda de massa óssea e de fraturas osteoporóticas⁵³.

A associação entre os níveis séricos de vitamina D e ingestão de cálcio também são fatores determinantes para a manutenção do metabolismo ósseo^{29,54}, havendo efeito protetor no osso quando há suplementação de vitamina D associada ao cálcio⁵⁵. O metabólito ativo da vitamina D [1,25(OH)₂Vitamina D] estimula o crescimento e a remodelação óssea, pois aumenta a atividade de síntese de matriz dos osteoblastos e condrócitos, além de inibir a diferenciação dos pré-osteoclastos em osteoclastos (56). Contudo, vale ressaltar que a mineralização induzida pela vitamina D requer ingestão dietética suficiente dos íons cálcio, do contrário, observa-se aumento do risco para desenvolvimento de hiperparatireoidismo secundário, que pode exercer efeitos reabsortivos no osso⁵⁴.

Desequilíbrios na homeostase do cálcio em idosos de ambos os sexos dependem de diversos fatores, entre eles (i) a baixa ingestão dietética de cálcio, (ii) a redução da absorção e reabsorção deste íon pelo intestino e pelos túbulos renais, respectivamente, e (iii) a diminuição da síntese endógena de vitamina D na pele. Como comentado anteriormente, a combinação de baixos níveis séricos de vitamina D com a baixa aquisição dietética de cálcio contribui para um aumento na secreção basal de PTH, condição que, se não for corrigida, pode induzir a osteoporose em idosos, com alto risco de quedas e fraturas^{11,57,58}. Na **figura 1**, pode-se observar a influência de alguns mediadores químicos, como hormônios e citocinas, no sistema RANK/RANKL/OPG.

4.4 INTERAÇÃO ENTRE O METABOLISMO DE GLICÍDIOS, LIPÍDIOS E O METABOLISMO ÓSSEO

O metabolismo ósseo pode ser influenciado pelo efeito de hormônios relacionados com o metabolismo energético como a insulina, bem como com o perfil glicídico e lipídico dos indivíduos, correlacionando positivamente diabetes mellitus e síndrome metabólica com osteoporose^{10,59-62}. Em condições fisiológicas, existe interação entre o sistema esquelético e a homeostase da glicose, visto que a insulina parece estimular a diferenciação de osteoblastos, induzindo-os a secretarem osteocalcina, que, por sua vez, aumenta a sensibilidade à insulina em diversos tecidos^{13,59}. Adicionalmente, um estudo chinês observacional demonstrou que a ação da insulina nos osteoblastos promove redução da secreção de OPG, e que indivíduos com diabetes tipo 2 ou com controle glicêmico prejudicado apresentaram altos níveis séricos de OPG, correlacionando positivamente OPG com resistência à insulina⁶³. Estes dados sugerem que a insulina promove efeitos essenciais nos processos de modelação e remodelação óssea, e que osteocinas (hormônios liberados pelo osso) contribuem para a regulação do metabolismo da glicose¹³.

A hiperglicemia constante promove a glicosilação de proteínas de forma não enzimática na matriz extracelular de vários tecidos, promovendo a síntese de produtos de glicação avançada (AGE), com conseqüente redução funcional. O colágeno glicado e outros AGEs da matriz óssea prejudicam a atividade de síntese dos osteoblastos, afeta seu crescimento e sua diferenciação, além de reduzir a qualidade e competência da matriz óssea⁶⁴⁻⁶⁶.

A dislipidemia, averiguada principalmente dosando-se os níveis séricos de triglicérides (TG), colesterol total (CT) e associado às lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e de alta densidade (HDL), também parece ter importante papel no desenvolvimento da osteoporose⁶¹. Os resultados de estudos observacionais correlacionando cada componente do perfil lipídico com a DMO são bastante variáveis, apresentando correlações positivas, negativas e mesmo nenhuma correlação^{10,14,61,67-71}. Alguns estudos ainda reportam que o efeito das variáveis do perfil lipídico na DMO sofre influências significantes da faixa etária, do sexo biológico e dos níveis séricos de hormônios sexuais^{72,73}, o que torna mais complexo o entendimento dos mecanismos

moleculares envolvidos na correlação entre dislipidemia e o metabolismo ósseo. Devido às divergências entre os diversos estudos clínicos e observacionais na literatura científica, mais estudos são necessários para elucidação da real contribuição do perfil lipídico e quais as bases moleculares que levam o indivíduo a perder massa mineral óssea.

4.5 OBESIDADE E METABOLISMO ÓSSEO

Sobrepeso e obesidade são definidos como um acúmulo anormal ou excessivo de gordura conferindo risco à saúde do indivíduo ⁷⁴. Devido à grande heterogeneidade da obesidade, a mensuração do peso e do IMC isolados não são bons indicadores para se estimar a composição e distribuição de gordura corporal. Por isso, outras técnicas de baixo custo são amplamente utilizadas e aceitas por profissionais e pesquisadores da área de saúde para verificar a quantidade e distribuição de gordura corporal, como as medidas das circunferências da cintura, do quadril, do pescoço e da coxa, e as razões entre cintura/quadril, cintura/altura, e cintura/coxa ⁷⁵. A circunferência do braço não é comumente utilizada na prática clínica global, porém tem se mostrado útil para avaliação de desnutrição em crianças e idosos, devendo haver mais estudos com esse parâmetro para validação clínica ^{76,77}.

Desde a descoberta da função endócrina do tecido adiposo, tem-se evidenciado a relação da obesidade com o surgimento e a progressão de diferentes doenças crônicas associadas ao envelhecimento, principalmente devido à secreção de adipocinas pró-inflamatórias, tais como proteína C-reativa (PCR), TNF e IL-6 ¹². Sabe-se que as citocinas pró-inflamatórias no microambiente da medula óssea estimulam a diferenciação e maturação osteoclástica, o que leva ao aumento da reabsorção óssea ^{78,79}. Indivíduos com obesidade central normalmente apresentam maiores níveis séricos de citocinas pró-inflamatórias, apresentando inflamação sistêmica crônica de baixo grau ^{12,79}. Contudo, é importante ressaltar que o padrão de secreção de citocinas pelo tecido adiposo varia a depender da qualidade da dieta e da prática de atividade física, podendo mudar de um perfil inflamatório para anti-inflamatório ⁸⁰.

Apesar de essas evidências demonstrarem a associação entre a obesidade e o aumento da reabsorção óssea, há relatos na literatura científica de que a obesidade

exerce papel osteoprotetor ^{79,81-83}. Uma das possíveis explicações para esse achado é o efeito positivo da carga mecânica sobre o osso exercida pelo tecido adiposo ⁷⁴. Esta hipótese tem sido questionada, uma vez que o suposto efeito protetor da obesidade sobre a DMO parece ser seletivo, protegendo alguns tecidos ósseos, enquanto deixam outros mais vulneráveis à perda de massa mineral ^{74,84}. Além disso, não há evidências de que a obesidade previna a ocorrência de fraturas ósseas após evento de queda ⁸⁵.

4.6 ASPECTOS GENÉTICOS DA PERDA DE DMO

A DMO é uma característica altamente hereditária, com herdabilidade entre 50 – 80% ⁸⁶. Os estudos com gêmeos monozigóticos e dizigóticos realizados entre as décadas de 70 a 90 sugeriram que o componente genético pode contribuir com 50 a 90% da variabilidade da DMO ^{87,88}. Desde então, numerosos estudos de associação com genes candidatos, e posteriormente estudos de associação em escala genômica (GWAS, do inglês *genome wide association study*) foram realizados, no intuito de entender a arquitetura genética da osteoporose e, adicionalmente, a susceptibilidade de fraturas ósseas. Observa-se que a DMO é uma característica poligênica bastante complexa, e mutações monogênicas explicam uma pequena fração dessa variação ⁸⁶.

Estudos prévios realizados com camundongos mutantes com deleção no *TNFSF11* (RANKL), *TNFRSF11A* (RANK) e *TNFRSF11B* (OPG) demonstraram a função essencial do sistema RANK/RANKL/OPG na determinação da DMO ³⁹. Nas últimas duas décadas, estudos GWAS e meta-análises desses GWAS têm mostrado associação de alguns SNPs presentes em regiões próximas ou dentro do gene *TNFSF11* (RANKL) e *TNFRSF11B* (OPG) com maior risco de osteoporose e fratura ^{19,33,89,90}.

Dos diversos polimorfismos estudados, foram selecionados para o presente estudo cinco SNPs. Três SNPs estão localizados no 8q24, nas proximidades ou dentro do gene *TNFRSF11B*, que codifica a OPG (rs2062377A/T, rs3102735C/T e rs6469804A/G). Os outros dois SNPs estão localizados no 13q14 nas proximidades do gene *TNFSF11*, que codifica o RANKL (rs9594738C/T e rs9525641C/T).

O SNP rs2062377 presente no *TNFRSF11B* (OPG) foi selecionado devido ao fato de ter sido o que apresentou maior força de associação com DMO e fraturas

osteoporóticas em uma abrangente meta-análise de GWAS, que analisou uma população de mais de 200 mil pessoas, incluindo indivíduos de ascendência europeia e asiática ¹⁹. Em outras três GWAS com população europeia, australiana e asiática, outro SNP, o rs9594738 presente no *TNFSF11* (RANKL), mostrou consistentemente apresentar forte associação com a DMO ^{89,91,92}. Os alelos T-rs2062377 e T-rs9594738 parecem ser importantes marcadores de risco para redução da DMO da coluna lombar em populações caucasianas e orientais ⁸⁹.

Em menor escala amostral, estudos de associação de genes candidatos também demonstraram que alguns SNPs próximos ou dentro dos genes da OPG e RANKL estão associados a menor DMO e/ou osteoporose em populações de diversas nacionalidades ^{32,93-96}. O SNP rs3102735 do *TNFRSF11B* (OPG) apresentou associação com DMO do quadril em mulheres chinesas pós-menopáusicas ⁹⁷. Um estudo realizado com idosos brasileiros, de ambos os sexos, residentes do estado de São Paulo, demonstrou que o alelo C-rs3102735 está associado a menores valores de DMO e maior frequência de ocorrência de fraturas osteoporóticas ³². O SNP rs9525641 do *TNFSF11* (RANKL) também se mostrou associado à DMO em estudos prévios, que sugeriram que o alelo T-rs9525641 exerce papel protetor na massa óssea em uma população de mulheres italianas e eslovenas ^{20,98}. Sugere-se que esse efeito protetor seja justificado pela menor atividade promotora do *TNFSF11* quando há presença do alelo T-rs9525641, o que clinicamente se reflete como uma menor transcrição deste gene ⁹⁹.

Por fim, o estudo GWAS, realizado em populações caucasianas europeias e asiáticas, também encontrou que o rs6469804, presente no *TNFRSF11B* (OPG), está associado com DMO, sendo o alelo A-6469804 um possível marcador de risco para perda de massa óssea ⁸⁹. Confirmando esse achado, estudos de associação em indivíduos iranianos e chineses demonstraram que o alelo A-rs6469804 está em associação à baixa DMO, mais especificamente da coluna lombar ^{97,100}. Importante salientar que ainda existem poucas informações referentes à associação desses SNPs com a DMO em populações miscigenadas, a exemplo da população brasileira, tornando necessários estudos exploratórios que investiguem o efeito dos genótipos e alelos desses SNPs sobre a massa mineral óssea.

O **quadro 1** apresenta informações sobre os SNPs selecionados quanto à localização, aos alelos e sua frequência na população europeia e afro-americana ¹⁰¹.

Quadro 1- Informações sobre os SNPs rs2062377, rs3102735, rs6469804, rs9594738 e rs9525641.

| SNP | Gene | Proteína codificada | Localização Cromossômica (GRCh38) | Alelos (ancestral>mutante) | Frequência dos alelos ancestral/mutante (europeia e afro-americana) |
|------------|------------------|----------------------------|--|--------------------------------------|--|
| rs2062377 | <i>TNFRSF11B</i> | OPG | 8:118995181 | T>A | 0,42/0,58 e 0,14/0,85 |
| rs3102735 | <i>TNFRSF11B</i> | OPG | 8:118952831 | T>C | 0,86/0,14 e 0,77/0,23 |
| rs6469804 | <i>TNFRSF11B</i> | OPG | 8:119032590 | G>A | 0,44/0,56 e 0,09/0,91 |
| rs9594738 | <i>TNFSF11</i> | RANKL | 13:42378009 | C>T | 0,53/0,47 e 0,73/0,27 |
| rs9525641 | <i>TNFSF11</i> | RANKL | 13:42573888 | T>C | 0,55/0,45 e 0,49/0,50 |

Fonte: dados extraídos do ¹⁰¹.

Material e Métodos

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO

O presente estudo é do tipo exploratório transversal. A primeira etapa desta pesquisa foi caracterizar a DMO do colo do fêmur e da coluna lombar, e todas as variáveis propostas (perfil glicídico, lipídico, hormonal, antropométrico e genético). Após a etapa de caracterização da população estudada, investigou-se a associação entre os dados da DMO e os dados das variáveis descritas neste estudo.

5.2 PARTICIPANTES DA PESQUISA

As participantes da pesquisa foram indivíduos do sexo feminino, com faixa etária igual ou superior a 60 anos, matriculadas na Universidade Aberta à Terceira Idade (UATI) do *campus* I da Universidade do Estado da Bahia (UNEB). Após convite para a participação na pesquisa na sede da UATI, 142 alunas se cadastraram como voluntárias para a pesquisa. Foram considerados critérios de exclusão: histórico de câncer inferior a 5 anos, ser portador de doença renal aguda ou crônica, ou de artrite reumatoide. Não foram excluídos dos estudos de associação os dados das pessoas que faziam uso regular de fármacos que alterem o metabolismo ósseo, como, por exemplo, o uso contínuo de bifosfonados, anti-hipertensivos, anticoagulantes, anticonvulsivantes, estatinas, ou em terapia de reposição hormonal, sendo essas informações devidamente consideradas na análise estatística dos dados.

5.3 COLETA DOS DADOS DAS PARTICIPANTES DA PESQUISA

5.3.1 Entrevista e exame físico

O primeiro contato com as voluntárias da pesquisa ocorreu no Centro de Estudos e Atendimento Dietoterápico (CEAD) da UNEB. Foi realizada uma entrevista com aplicação de questionário estruturado por profissional técnico qualificado, previamente treinado, para obter informações sociodemográficas, clínicas e antecedentes médicos das idosas. Em seguida, foi realizado o exame físico para mensuração dos parâmetros antropométricos: peso, altura, circunferência da cintura (CC), do abdômen (CA), do

quadril (CQ) e do braço (CB) conforme descrito previamente¹⁰²⁻¹⁰⁴. Com a medida de peso e altura, foi calculado o IMC de cada sujeito de pesquisa.

5.3.2 Densitometria óssea

As participantes da pesquisa foram encaminhadas para o Centro de Referência Estadual de Atenção à Saúde do Idoso (CREASI) para a realização da densitometria óssea que verifica a DMO. A técnica utilizada no exame foi a absorciometria de dupla emissão de raio X (*Dual-Energy X-ray Absorptiometry*), que expressa a quantidade de mineral nos tecidos ósseos trabeculares em gramas por centímetro quadrado *scaneado* (g/cm^2)²⁹. O aparelho utilizado para a realização do exame foi o *Lunar Prodigy Primo*, e o software para análise foi o enCORE, ambos da GE Healthcare (Univen Healthcare Ltda, Curitiba-PA, Brasil). Também foram solicitados resultados de densitometrias prévias realizadas em menos de 2 anos, e quando o resultado apresentou osteoporose, uma nova densitometria foi solicitada.

Os dados de DMO foram caracterizados de acordo com o resultado do escore T (ΔT) da densitometria óssea do colo do fêmur e da coluna lombar, conforme orientação da Organização Mundial de Saúde, que compara os valores de massa mineral na área escaneada do indivíduo com os valores de referência da população adulta jovem^{9,29}:

- a) DMO normal: ΔT não ultrapassa 1DP (desvio padrão) abaixo da média da população adulta jovem ($\Delta T > -1DP$).
- b) Osteopenia: os valores do escore T se encontram entre 1 a 2,5 DP abaixo da média da população adulta jovem ($-1 DP \leq \Delta T < -2,5DP$)
- c) Osteoporose: os valores do escore T são maiores que 2,5 DP abaixo da média da população adulta jovem ($\Delta T \leq -2,5DP$)

Como houve poucos casos de osteoporose encontrados nas participantes do estudo, os grupos categóricos para a análise de dados foram: DMO normal ($\Delta T > -1DP$) e DMO baixa ($\Delta T \leq -1DP$) para o colo do fêmur ou para a coluna lombar. Os dados brutos de massa mineral óssea do colo do fêmur e da coluna lombar também foram analisados de forma contínua para averiguar correlação com as demais variáveis propostas no estudo.

5.3.3 Coleta de sangue

A coleta do sangue venoso foi feita com a idosa em jejum no Laboratório de Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia (LACTFAR) da UFBA, conveniado ao SUS. Uma amostra de 10 mL de sangue em tubo EDTA foi encaminhada para o Laboratório de Genética da UNEB, para extração de DNA genômico de cada voluntária da pesquisa. Uma alíquota de soro foi encaminhada ao Laboratório de Análises Clínicas da APAE para dosagem de PTH. A lista das biomoléculas dosadas no sangue, seus respectivos métodos para dosagem e valores de referência estão descritos no **quadro 2**.

Quadro 2- Exames de sangue para dosagem de hormônios e outras biomoléculas e seus respectivos métodos de análise e valores de referência.

| Exame | Método de Análise | Valores de Referência |
|-------------------------------------|--|---|
| Glicose de jejum | Enzimático/automatizado | 70 a 99 mg/dL |
| Hb1AC | Imunoturbidimetria | <6,5% (<48mmol/mol) |
| Insulina de jejum | Eletroquimioluminescência | 1,90 a 23,00 µUI/mL |
| Colesterol total | Enzimático/automatizado | Desejável < 190 mg/dL |
| HDL | Enzimático/automatizado | Desejável > 40mg/dL |
| LDL | Fórmula de Friedewald | (Conforme categoria de risco cardiovascular) Se baixo risco: < 130 mg/dL Se risco intermediário: < 100mg/dL Se alto risco: < 70mg/dL Se risco muito alto: < 50mg/dL |
| Triglicerídeos | Enzimático/automatizado | < 150mg/dL |
| Estradiol | Quimioluminescência | (Menopausa) Até 46 pg/mL |
| FSH (hormônio folículo estimulante) | Quimioluminescência | (Pós-menopausa) Sem TRH: 13,9 a 103,1 mUI/mL Com TRH: 1,7 a 96,8 mUI/mL |
| PTH (Paratormônio) | Quimioluminescência | 14,5 a 87,1 pg/mL |
| 25OH-Vitamina D | Imunoensaio Quimioluminescente de Micropartículas - CMIA | 30,0 a 60,0 ng/mL |
| Cálcio sérico | Arsenazo III | 8,8 a 11,0 mg/dL |
| Fósforo sérico | Fosfomolibdato - UV | 2,5 a 4,9 mg/dL |
| Fosfatase alcalina | Colorimétrico | 65 a 300 U/L |
| Proteína C-Reativa | Nefelometria | < 6 mg/dL |

5.3.4 Genotipagem de DNA genômico

O DNA genômico foi extraído a partir de amostra de sangue venoso usando o kit de extração *PureLink® Genomic DNA Mini Kit (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)*

seguindo as instruções do fabricante. A quantificação (ng) e pureza (260/280: 1,6 a 2,0) do DNA extraído foi realizada por espectrofotometria usando *Nanodrop™ One/One^C* (*Thermo Scientific™, Applied Biosystems, Foster City, CA, USA*). As amostras de DNA extraído ficaram armazenadas em freezer a -80°C.

Após diluição das amostras de DNA com água ultrapura para padronização na concentração de 5ng/μL, uma alíquota de 1,0μL de cada amostra foi transferida para poços na placa de 384-poços específicas para a genotipagem. Em cada poço, foi adicionado 9,0 μL de ensaio TaqMan® pré-desenhado para genotipagem contendo os *primers* e as sondas de cada SNP.

No total, foram escolhidos cinco SNPs: três SNPs estão localizados no 8q.24, nas proximidades ou dentro do *TNFRSF11B*, que codifica a OPG (rs2062377A/T, ID:C__1970989_10; rs3102735C/T, ID:C__1971046_10; e rs6469804A/G, ID:C__1968557_10); e dois SNPs estão localizados no 13q14 nas proximidades do *TNFRSF11B* que codifica o RANKL (rs9594738C/T, ID: C__30459982_20; e rs9525641C/T, ID:C__30171941_10). O volume final em cada poço da placa de 384 foi de 10μL, sendo constituído de 1,0μL de DNA genômico, e 9,0μL da solução de água ultrapura, *Mastermix TaqMan®* e o ensaio (sondas e *primers*) TaqMan® para genotipagem (*Thermo Scientific™, Applied Biosystems, Foster City, CA, USA*). A amplificação e leitura dos genótipos dos SNPs foram realizadas por reação em cadeia da polimerase em tempo real (RT-PCR), utilizando o *Quantstudio 6 Flex®* (*Thermo Scientific™, Applied Biosystems, Foster City, CA, USA*).

5.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística dos dados foi realizada utilizando o programa *Statistical Package for Social Sciences for Windows* versão 21.0 (SPSS Inc., Chicago, Estados Unidos). Teste de normalidade Shapiro-Wilk foi realizado para as variáveis contínuas, sendo os dados apresentados como média e desvio padrão (DP), quando a distribuição foi normal, ou mediana e intervalo interquartil (IIQ), para os dados com distribuição não-normal. Dados de variáveis categóricas foram apresentados por frequências absoluta (n) e relativa (%).

Testes do X^2 de Pearson e Exato de Fisher foram utilizados para verificar associação de variáveis categóricas entre os grupos DMO normal e DMO baixa para colo de fêmur e coluna lombar. O teste T de Student (paramétrico) e teste de Mann-Whitney (não paramétrico) foram utilizados para verificar associação de variáveis contínuas entre os grupos DMO normal e DMO baixa para colo de fêmur e coluna lombar. Coeficiente de correlação de Pearson e de Spearman foram utilizados para análise de correlação linear entre as variáveis do estudo com a massa mineral óssea do colo do fêmur e da coluna lombar.

As frequências genotípicas dos SNPs foram testadas quanto ao Equilíbrio de Hardy-Weinberg (HWE) através do programa Winpepi, versão 11.65. Para a comparação dos valores quantitativos de massa mineral óssea do colo do fêmur e da coluna lombar entre os genótipos de cada SNP, foi realizada a análise de variância de uma via (ANOVA *one-way*). Significância estatística foi considerada quando $p \leq 0,05$.

A análise de regressão linear foi realizada para previsão da variabilidade da massa mineral óssea do colo do fêmur e coluna lombar. As variáveis independentes que atingiram o nível de significância $p \leq 0,05$ nas análises estatísticas univariadas foram selecionadas para a regressão, bem como possíveis variáveis confundidoras, como idade, anos de menopausa, prática de exercício físico e etilismo.

Foi realizada a regressão logística bivariada para analisar se as variáveis investigadas no estudo são preditoras e se há risco de DMO baixa no colo do fêmur e/ou na colunar. As possíveis variáveis preditoras inseridas na regressão foram as que atingiram nível de significância $p \leq 0,25$ nas análises univariadas, bem como a idade, anos decorridos desde a menopausa, e os níveis séricos de estradiol como variáveis confundidoras.

5.5 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

O presente estudo seguiu as normas éticas estabelecidas na Declaração de Helsinki e na Resolução 466/2012. Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UNEB via “Plataforma Brasil” (Nº CAAE 32401614.6.0000.0057). Somente os indivíduos que expressaram disponibilidade e vontade de participar da

pesquisa através do termo de consentimento livre e esclarecido assinado foram recrutados para a realização dos procedimentos experimentais. Foi assegurado o direito de sigilo sem associação dos nomes dos voluntários aos dados e resultados dos estudos, bem como o direito de desistir de participar da pesquisa em qualquer estágio do estudo.

Resultados

6 RESULTADOS

6.1 ARTIGO 1

Efeito do perfil glicídico, lipídico e antropométrico sobre a densidade mineral óssea de idosas de ancestralidade miscigenada

RESUMO

Introdução: A redução da densidade mineral óssea (DMO), que ocorre tipicamente na osteoporose, induz à fragilidade óssea e susceptibilidade à ocorrência de fraturas, principalmente em idosas e mulheres após a menopausa. As correlações entre obesidade, dislipidemia, hiperglicemia, distúrbios hormonais e alterações no sistema imunológico com a osteoporose são amplamente discutidas no meio científico. No entanto, os resultados dessas correlações são contraditórios, variando a depender dos hábitos de vida e da etnia da população estudada. **Objetivo:** Caracterizar a DMO e verificar suas possíveis associações com o perfil glicídico, lipídico, hormonal e antropométrico em idosas fisicamente ativas e de ancestralidade mista. **Métodos:** Estudo de corte transversal, que incluiu 67 idosas, com idade ≥ 60 anos, matriculadas em uma unidade de ensino em Salvador-BA. As participantes foram entrevistadas para obtenção de dados sociodemográficos e antropométricos. Foram realizados exames bioquímicos de sangue para dosagem de biomoléculas do perfil glicídico, lipídico, metabólico e hormonal. A DMO do fêmur proximal e da coluna lombar foi averiguada por meio de densitometria óssea. Testes estatísticos foram realizados para verificação de possíveis associações e correlações entre as variáveis do estudo e a DMO do colo do fêmur e da coluna lombar. **Resultados:** Todas as variáveis antropométricas apresentaram correlação positiva com a massa mineral óssea, tanto do colo do fêmur quanto da coluna lombar. A PCR e estradiol apresentaram correlação positiva com a massa mineral do fêmur e lombar, respectivamente. Houve correlação negativa entre massa mineral da coluna lombar com colesterol total e LDL. O peso corporal foi o preditor mais importante para a variabilidade da massa óssea do colo do fêmur e da coluna lombar. Em menor proporção, os níveis de estradiol e de LDL mostraram ser preditores da massa mineral do colo do fêmur e da coluna lombar, respectivamente. **Conclusão:** Entre todas as variáveis analisadas, o peso corporal parece ser o principal fator que influencia em maiores valores de DMO em idosas miscigenadas praticantes de atividade física. O estradiol foi preditor para maiores valores de DMO no colo do fêmur, e o LDL foi preditor para menores valores de DMO na coluna lombar no nosso grupo amostral.

Palavras-chave: Idosas. Densidade mineral óssea. Etnia. Antropometria. Colesterol.

INTRODUÇÃO

O “envelhecimento biológico” é acompanhado de mudanças hierarquicamente

organizadas no nível molecular e celular que, com o avançar da idade, manifesta-se com alterações funcionais¹⁰⁵. Todos os sistemas do organismo sofrem efeitos do envelhecimento, levando a repercussões clínicas importantes no metabolismo e na qualidade de vida de indivíduos idosos, tornando-os mais susceptíveis ao desenvolvimento de doenças crônicas³.

A osteoporose, caracterizada por redução de massa óssea e deterioração de sua microarquitetura, induz à fragilidade óssea e grande susceptibilidade à ocorrência de fraturas, particularmente em indivíduos com idades mais avançadas. A osteoporose contribui com altas taxas de morbimortalidade em idosos e com altos custos para o setor de saúde²⁹. Sua etiologia está associada a diversos fatores, dentre eles alterações metabólicas e endócrinas, decorrentes de fatores genéticos e/ou ambientais^{8,9}.

Os principais determinantes da osteoporose pós-menopausa envolvem mecanismos endócrinos, a exemplo da deficiência de estrogênio, de vitamina D, e hiperparatireoidismo secundário, fatores amplamente frequentes em idosos. Contudo, nos últimos anos, tem se tornado evidente que os mecanismos fisiopatológicos da osteoporose envolvem interações complexas, entre outros fatores, como os metabólicos e imunológicos, os quais são influenciados diretamente pelo estilo de vida e pelos hábitos alimentares^{106,107}. Outro fator que influencia a densidade mineral óssea (DMO) são os aspectos étnicos/raciais, sendo observado que indivíduos negros apresentam maior DMO do que indivíduos caucasianos e asiáticos^{108,109}.

Dislipidemia, alterações do perfil glicídico, inflamação crônica e os próprios parâmetros antropométricos, como o índice de massa corporal (IMC), massa magra e massa gorda, têm influência na DMO em indivíduos idosos^{13,16,72,73,110}. Ainda não está evidente na literatura científica como esse conjunto de fatores interfere na DMO em indivíduos de ancestralidade mista. Dessa forma, este estudo visa investigar a associação entre DMO, parâmetros lipídicos, glicídicos e antropométricos em idosas de etnia miscigenada em Salvador-BA.

MATERIAL E MÉTODOS

Delineamento do estudo e Participantes da pesquisa

Este estudo de corte transversal seguiu as normas éticas estabelecidas na

Declaração de Helsinque e na Resolução 466/2012, sendo aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UNEB (CAAE 32401614.6.0000.0057). Os indivíduos que expressaram disponibilidade e vontade de participar assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido.

Foram recrutadas 142 idosas matriculadas em uma unidade de ensino em Salvador-BA. Os critérios de inclusão eram pertencer ao sexo feminino e ter 60 anos ou mais. Das 142 idosas entrevistadas, 67 foram incluídas no estudo, pois realizaram todos os exames bioquímicos de sangue e a densitometria óssea requisitados para a análise de dados. Foram excluídas do estudo pessoas com histórico de câncer diagnosticado em um período de pelo menos 5 anos; indivíduos portadores de doença renal aguda ou crônica, ou de artrite reumatoide. Não foram excluídas pessoas em uso de terapia de reposição hormonal (TRH), ou com uso regular de fármacos que alterem o metabolismo ósseo, como, por exemplo, bifosfonados, uso contínuo de corticosteroides, anticoagulantes ou anticonvulsivantes, sendo essas informações devidamente consideradas na análise estatística dos dados. O desenho experimental está descrito de maneira resumida na **Figura 1**.

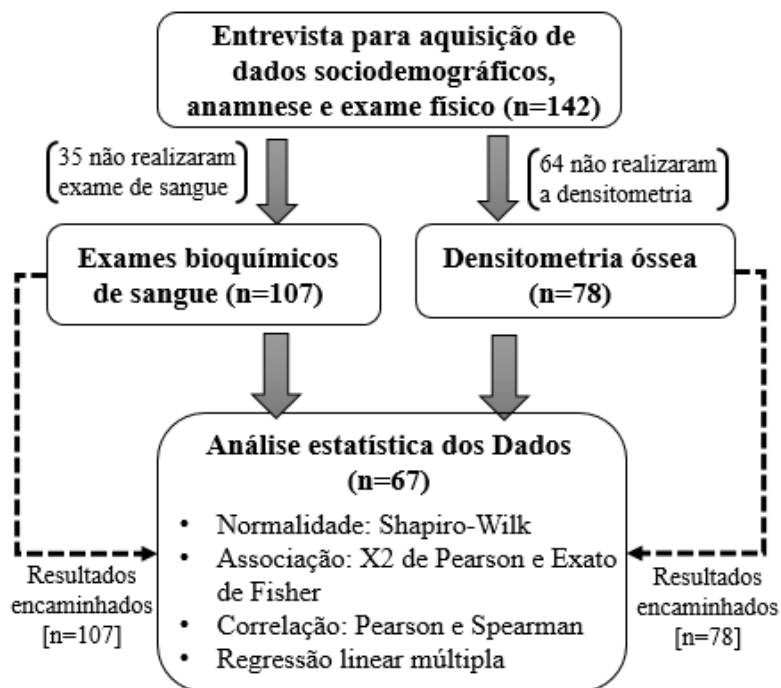


Figura 1. Fluxograma com o desenho do estudo.

Medidas antropométricas

Durante a entrevista, foram coletados os dados antropométricos das idosas participantes da pesquisa. Foi mensurado o peso corporal (kg) com uso de balança digital (Toledo®) e a altura com estadiômetro vertical portátil (Welmy®). O IMC foi calculado utilizando a seguinte fórmula: [peso corporal (kg)/altura*altura (m²)]. As circunferências da cintura (CC), do abdômen (CA), quadril (CQ) e braço (CB) foram aferidas com fita inelástica de fibra de vidro, com dois metros de comprimento, próprias para avaliações antropométricas. A CC foi mensurada no plano horizontal do ponto médio entre a última costela e a borda superior da crista ilíaca, enquanto que a CA foi aferida no plano horizontal da porção de maior extensão anterior do abdome. A CQ foi mensurada no maior diâmetro do quadril, passando a fita sobre os trocânteres maiores, e a CB no ponto médio entre o processo acromial da escápula e o olécrano da ulna ¹⁰²⁻¹⁰⁴.

Medidas de DMO

A DMO foi mensurada pelo exame de densitometria óssea do colo do fêmur e da coluna lombar (L1-L4), utilizando a técnica Dual-Energy X-ray Absorptiometry (DEXA), que expressa a quantidade de mineral nos tecidos ósseos trabeculares em gramas por centímetro quadrado escaneado (g/cm²) (29). O aparelho utilizado para a realização do exame foi o *Lunar Prodigy Primo*, e o software para análise foi o enCORE, ambos da GE Healthcare (Univen Healthcare Ltda, Curitiba-PA, Brasil). De acordo com os resultados do escore T (ΔT), as idosas foram categorizadas em dois grupos: DMO normal ($\Delta T > -1,0$) e DMO baixa ($\Delta T \leq -1,0$), tanto para o colo do fêmur, quanto para a coluna lombar. Além disso, os dados brutos de massa mineral óssea também foram utilizados como variáveis contínuas para análise de correlação linear bivariada e regressão linear múltipla.

Exames bioquímicos de sangue

Para investigação do perfil glicêmico, lipídico, metabólico e hormonal dos sujeitos de pesquisa, foi realizada a coleta de sangue venoso periférico com a voluntária em jejum. Foram dosados os níveis séricos das seguintes moléculas: glicose (método enzimático/automatizado); hemoglobina glicada (HbA1C, pelo método imunoturbidimetria); insulina de jejum (método eletroquimioluminescência); colesterol

total (CT), lipoproteína de alta densidade (HDL) e triglicerídeos (TG, pelo método enzimático/automatizado); lipoproteína de baixa densidade (LDL, pela fórmula de Friedewald); 25(OH)-vitamina D (método quimioluminescência); paratormônio (PTH), hormônio folículo estimulante (FSH) e estradiol (método quimioluminescência); fosfatase alcalina (método colorimétrico); cálcio total (método colorimétrico Arsenazo III); fósforo (método colorimétrico Fosfomolibdato-UV); proteína C-reativa (PCR, pelo método nefelometria).

Análise estatística

A análise estatística dos dados foi realizada utilizando o programa *Statistical Package for Social Sciences for Windows* versão 21.0 (SPSS Inc., Chicago, Estados Unidos). Teste de normalidade Shapiro-Wilk foi realizado para as variáveis contínuas, sendo os dados apresentados como média e desvio padrão (DP), quando a distribuição foi normal, ou mediana e intervalo interquartil (IIQ), para os dados com distribuição não-normal. Dados de variáveis categóricas foram apresentados por frequências absoluta (n) e relativa (%). Testes do X^2 de Pearson e Exato de Fisher foram utilizados para verificar associação de variáveis categóricas entre os grupos DMO normal e DMO baixa para colo de fêmur e coluna lombar. O teste T de Student (paramétrico) e teste de Mann-Whitney (não paramétrico) foram utilizados para verificar associação de variáveis contínuas entre os grupos DMO normal e DMO baixa para colo de fêmur e coluna lombar. Coeficiente de correlação de Pearson e de Spearman foram utilizados para análise de correlação linear entre as variáveis do estudo com a massa mineral óssea do colo do fêmur e da coluna lombar. A regressão linear múltipla foi realizada para previsão da variabilidade da massa mineral óssea do colo do fêmur e coluna lombar. O modelo escolhido para a regressão foi o *stepwise: forward*. As variáveis que atingiram nível de significância estatística nas análises univariadas, bem como variáveis clinicamente importantes que influenciam no metabolismo ósseo, foram selecionadas como variáveis independentes para a regressão. Significância estatística foi considerada quando $p \leq 0,05$.

RESULTADOS

A **tabela 1** mostra os dados sociodemográficos e clínicos das 67 idosas incluídas

no estudo, distribuídas em dois grupos (DMO normal e DMO baixa), conforme os resultados da densitometria óssea do colo de fêmur e da coluna lombar.

De acordo com o ΔT dos resultados da densitometria óssea do colo de fêmur, 31 (46,3%) idosas apresentaram DMO normal, e 36 (53,7%) apresentaram DMO baixa (tabela 1, coluna central). Em ambos os grupos, a maioria das idosas se autorreferiram pardas (DMO normal=45,2%; DMO baixa=52,8%; $p=0,549$) e eram praticantes de atividade física (DMO normal=87,1%, DMO baixa=91,7%; $p=0,696$). Não houve diferenças estatísticas quanto ao consumo de álcool ($p=0,146$), à terapia de reposição hormonal ($p=0,094$), à suplementação de vitamina D ($p=0,747$) e ao uso de fármacos bifosfonados e estatinas ($p=0,205$, $p=0,509$, respectivamente) entre os grupos DMO normal e DMO baixa do colo do fêmur. Não houve diferença estatística significativa na média da idade ($p=0,996$) e nos anos decorridos após a menopausa ($p=0,396$) entre esses dois grupos.

Tabela 1. Dados sociodemográficos e clínicos das voluntárias da pesquisa distribuídas em grupos de acordo com os resultados da densitometria óssea de colo de fêmur (DMO normal ou baixa) e de vértebras lombares L1-L4 (DMO normal ou baixa).

| | COLO DE FÊMUR (n=67) | | | | | COLUNA LOMBAR L1-L4 (n=67) | | | | |
|---|----------------------|-------|------------------|-------|---------|----------------------------|-------|------------------|-------|---------|
| | DMO normal (n=31) | | DMO baixa (n=36) | | p-valor | DMO normal (n=36) | | DMO baixa (n=31) | | p-valor |
| VARIÁVEIS CONTÍNUAS | Média | (DP) | Média | (DP) | | Média | (DP) | Média | (DP) | |
| Idade (anos) | 68,6 | 4,2 | 68,6 | 5,4 | 0,996 | 68,4 | 4,6 | 68,9 | 5,2 | 0,649 |
| Anos de menopausa (anos) | 18 | 5,7 | 19,5 | 7,7 | 0,396 | 18,2 | 7 | 19,6 | 6,7 | 0,418 |
| Massa mineral - Fêmur (g/cm ²) | 0,968 | 0,061 | 0,801 | 0,062 | 0,000* | 0,918 | 0,096 | 0,832 | 0,095 | 0,001* |
| Massa mineral - Lombar (g/cm ²) | 1,127 | 0,112 | 0,988 | 0,131 | 0,000* | 1,152 | 0,077 | 0,937 | 0,103 | 0,000* |
| VARIÁVEIS CATEGÓRICAS | N | % | N | % | p-valor | N | % | N | % | p-valor |
| Etnia | | | | | | | | | | |
| branca | 5 | 16,1% | 4 | 11,1% | | 7 | 19,4% | 2 | 6,5% | |
| preta | 12 | 38,7% | 11 | 30,6% | 0,548 | 12 | 33,3% | 11 | 35,5% | 0,321 |
| parda | 14 | 45,2% | 21 | 58,3% | | 17 | 47,3% | 18 | 58,0% | |
| Exercício Físico | | | | | | | | | | |
| sim | 27 | 87,1% | 33 | 91,7% | 0,696 | 32 | 88,9% | 28 | 90,3% | 1 |
| Etílica | | | | | | | | | | |
| sim | 17 | 54,8% | 13 | 36,1% | 0,146 | 19 | 52,8% | 11 | 35,5% | 0,219 |
| Diabetes Mellitus tipo 2 | | | | | | | | | | |
| sim | 3 | 9,7% | 8 | 22,2% | 0,167 | 7 | 19,4% | 4 | 12,9% | 0,471 |
| Terapia de Reposição hormonal | | | | | | | | | | |
| sim | 3 | 9,7% | 0 | 0% | 0,094 | 3 | 8,3% | 0 | 0% | 0,243 |
| Suplementação de Vitamina D | | | | | | | | | | |
| sim | 15 | 48,8% | 16 | 44,4% | 0,747 | 16 | 44% | 15 | 48% | 0,747 |
| Bifosfonados | | | | | | | | | | |
| sim | 1 | 3,2% | 5 | 13,9% | 0,205 | 2 | 5,6% | 4 | 12,9% | 0,404 |
| Estatinas | | | | | | | | | | |
| sim | 13 | 41,9% | 18 | 50% | 0,509 | 17 | 47,2% | 14 | 45,2% | 0,866 |

O teste estatístico utilizado para comparação das médias das variáveis contínuas foi o teste T de Student. O teste estatístico utilizado para comparação das frequências das variáveis categóricas foi o teste associação de Pearson e, quando indicado, o Exato de Fisher. Nível de significância estatística $p \leq 0,05$.

Legenda: DMO, densidade mineral óssea; DP, desvio padrão.

De acordo com o ΔT da densitometria óssea da coluna lombar, observou-se que 36 (53,7%) apresentavam DMO normal, enquanto 31 (46,3%) apresentavam DMO baixa (tabela 1, coluna à direita). Semelhante aos resultados do colo do fêmur, em ambos os grupos, a maioria das idosas se autodeclararam pardas (DMO normal =45,2%; DMO baixa=54,8%; $p=0,472$) e eram praticantes de atividade física (DMO normal=88,9%, DMO baixa=90,3%; $p=1$). Ao comparar o grupo de idosas com DMO normal e DMO baixa da coluna lombar, não houve diferenças estatísticas significantes quanto à média de idade ($p=0,649$), aos anos de menopausa ($p=0,418$), ao consumo de álcool ($p=0,219$), à terapia de reposição hormonal ($p=0,243$), suplementação de vitamina D ($p=0,747$) e ao uso de fármacos bifosfonados e estatinas ($p=0,404$, $p=0,866$, respectivamente).

A tabela 2 mostra a comparação das medidas de tendência central dos resultados dos exames bioquímicos e antropométricos entre o grupo de idosas com DMO normal e DMO baixa no colo de fêmur e na coluna lombar.

Tabela 2. Comparação dos dados de exames bioquímicos e antropométricos entre o grupo de idosas com DMO normal (n=31) e DMO baixa (n=36) do colo do fêmur e DMO normal (n=36) e DMO baixa (n=31) da coluna lombar (vértebras L1 a L4).

| VARIÁVEIS | COLO DE FÊMUR (n=67) | | | COLUNA LOMBAR (L1-L4) | | |
|---|--------------------------------|--------------------------------|---------|--------------------------------|--------------------------------|---------|
| | DMO normal (n=31) | DMO baixa (n=36) | p-valor | DMO normal (n=36) | DMO baixa (n=31) | p-valor |
| | Média (DP) ou Mediana (IIQ) | Média (DP) ou Mediana (IIQ) | | Média (DP) ou Mediana (IIQ) | Média (DP) ou Mediana (IIQ) | |
| Perfil glicídico | | | | | | |
| Hb1AC (%) ^a | 5,7 (0,9) | 5,7 (1,0) | 0,990 | 5,7 (0,9) | 5,6 (0,9) | 0,450 |
| Glicemia de jejum (mg/dL) ^a | 94,3 (12,3) | 98,6 (17,6) | 0,260 | 97,8 (13,6) | 96,0 (19,1) | 0,965 |
| Insulina (μ UI/mL) | 8,6 (5,1) | 8,2 (4,1) | 0,836 | 8,9 (5,0) | 7,7 (3,9) | 0,302 |
| Perfil lipídico | | | | | | |
| Colesterol total (mg/dL) | 213,3 (44,5) | 217,2 (51,9) | 0,740 | 203,8 (41,3) | 228,9 (52,9) | 0,032* |
| HDL (mg/dL) | 59 (12,4) | 59,3 (11,3) | 0,924 | 56,7 (11,5) | 62,0 (11,5) | 0,064 |
| LDL (mg/dL) | 133,8 (38,4) | 134,8 (47,3) | 0,922 | 124,9 (34,6) | 145,2 (49,5) | 0,061 |
| Triglicérides (mg/dL) ^a | 108,0 (77,0) | 105,5 (78,3) | 0,701 | 111,5 (74,3) | 103,0 (74,0) | 0,336 |
| Outros aspectos bioquímicos | | | | | | |
| Fosfatase alcalina (U/L) ^a | 183,0 (67,0) | 181,2 (99,4) | 0,763 | 176,2 (76,3) | 192,0 (81,8) | 0,339 |
| Cálcio Total (mg/dL) | 9,7 (0,4) | 9,7 (0,5) | 0,505 | 9,7 (0,4) | 9,7 (0,5) | 0,664 |
| Fósforo (mg/dL) | 3,8 (0,4) | 3,9 (0,4) | 0,465 | 3,9 (0,4) | 3,9 (0,4) | 0,704 |
| Proteína C reativa (mg/L) ^a | 3,0 (3,1) | 2,4 (1,5) | 0,146 | 2,7 (2,6) | 2,7 (1,9) | 0,955 |
| Aspectos hormonais | | | | | | |
| 25OH-Vitamina D (ng/mL) | 33,9 (7,1) | 31,7 (5,7) | 0,166 | 33,3 (7,0) | 31,9 (5,8) | 0,380 |
| FSH (mUI/mL) | 61,1 (22,6) | 63,8 (22,6) | 0,628 | 60,9 (22,5) | 64,5 (22,6) | 0,515 |
| Estradiol (pg/mL) ^a | 10,0 (3,9) | 10,0 (2,5) | 0,728 | 10,0 (5,9) | 10,0 (0,0) | 0,012* |
| PTH (pg/mL) ^a | 34,7 (12,7) | 35,9 (11,1) | 0,860 | 38,5 (21,3) | 42,6 (26,4) | 0,980 |
| Aspectos antropométricos | | | | | | |
| Peso corporal (kg) | 71,4 (10,9) | 63,7 (10,9) | 0,005* | 69,9 (12,2) | 64,2 (10,0) | 0,041* |
| Altura (m) | 1,57 (0,06) | 1,55 (0,06) | 0,240 | 1,57 (0,06) | 1,55 (0,06) | 0,198 |
| IMC (kg/m ²) | 29,02 (4,09) | 26,49 (4,28) | 0,016* | 28,41 (4,53) | 26,79 (4,03) | 0,131 |
| Circunferência da cintura ¹ (cm) | 92,9 (10,7) | 85,6 (16,7) | 0,044* | 91,8 (10,6) | 85,7 (17,8) | 0,139 |
| Circunferência abdominal (cm) | 96,7 (11,7) | 91,8 (10,2) | 0,077 | 94,5 (12,1) | 93,4 (10,0) | 0,963 |
| Circunferência do quadril (cm) | 103,5 (9,3) | 98,8 (9,4) | 0,047* | 102,4 (10,7) | 99,3 (8,0) | 0,178 |
| Circunferência do braço (cm) | 31,4 (3,7) | 29,2 (3,6) | 0,017* | 31,1 (4,1) | 29,3 (3,1) | 0,053 |

^aAs variáveis que apresentam distribuição não normal no teste de normalidade tem valores de tendência central apresentados como mediana (IIQ)

¹N=64. Faltam dados de 3 pessoas que compõem o grupo DMO normal tanto para colo do fêmur quanto para coluna lombar.

*Significância estatística ($P<0,05$) no teste T ou no teste de Mann-Whitney para comparação de médias e mediana, respectivamente, em amostras independentes.

Legenda: DP, desvio padrão; FSH, hormônio folículo-estimulante; Hb1AC, hemoglobina glicada; HDL, lipoproteína de alta densidade; IIQ, intervalo interquartil; IMC, índice de massa corporal; LDL, lipoproteína de baixa densidade; PTH, paratormônio.

Dos exames bioquímicos, nenhuma das variáveis relacionadas com o perfil glicídico, lipídico, hormonal e outros aspectos bioquímicos apresentaram diferença estatística significativa quando comparadas entre o grupo DMO normal e DMO baixa no colo do fêmur. No entanto, quanto aos aspectos antropométricos, observou-se que a média dos valores de peso corporal, IMC, CC, CQ e CB foram maiores no grupo DMO normal, quando comparados ao grupo DMO baixa no colo de fêmur, e essas diferenças foram significantes estatisticamente [ver valores de média (DP) ou mediana (IIQ), bem como p-valor na **tabela 2, coluna central**].

A **coluna à direita da tabela 2** mostra os valores de média (DP) ou mediana (IIQ) das variáveis investigadas nos grupos DMO normal e DMO baixa para a coluna lombar. De maneira semelhante, nenhuma das variáveis que compõem o perfil glicídico nem de outros aspectos bioquímicos apresentaram diferença estatística significativa quando comparados entre o grupo DMO normal e DMO baixa. No entanto, observou-se que, das variáveis do perfil lipídico, a média dos valores de CT foi significativamente maior no grupo DMO baixa quando comparada ao grupo DMO normal. Além disso, dentre os hormônios investigados, houve diferença estatística apenas entre os níveis séricos de estradiol entre o grupo DMO normal e DMO baixa. Quanto aos aspectos antropométricos, observou-se que apenas a média dos valores de peso corporal foi significativamente maior no grupo DMO normal, quando comparada ao grupo DMO baixa na coluna lombar. Os demais parâmetros antropométricos (altura, IMC, CC, CA, CQ e CB) não apresentaram diferenças estatísticas significantes entre os grupos [ver valores de média (DP) ou mediana (IIQ), bem como p-valor na **tabela 2, coluna à direita**].

No intuito de aumentar o poder das análises, investigaram-se possíveis correlações entre as variáveis: idade, anos de menopausa, e todas as variáveis que compõem o perfil glicídico, lipídico, hormonal, outros aspectos bioquímicos e os parâmetros antropométricos com os valores de massa mineral óssea do colo de fêmur e coluna lombar. A **tabela 3** mostra os valores do coeficiente de correlação e o p-valor dessas correlações. É possível observar que existe correlação positiva significativa, de força moderada, entre os parâmetros antropométricos peso corporal, IMC, CQ e CB com os valores de massa mineral óssea do colo do fêmur. A correlação entre as variáveis antropométricas altura e CA com a massa mineral óssea do colo do fêmur foi positiva, estatisticamente significativa, de força fraca. Outra variável que apresentou correlação

positiva fraca, significativa com a massa mineral óssea do colo de fêmur, foi a PCR (tabela 3, coluna do meio).

Tabela 3. Correlação entre as variáveis investigadas nos exames bioquímicos de sangue e os valores de massa mineral óssea do colo de fêmur e da coluna lombar (L1-L4) em idosas de Salvador-BA.

| VARIÁVEL | COLO DO FÊMUR | | COLUNA LOMBAR | |
|---|---|---------|---|---------|
| | Massa mineral óssea (g/cm ²) | | Massa mineral óssea (g/cm ²) | |
| | Coefficiente ρ | p-valor | Coefficiente ρ | p-valor |
| Idade (anos)^a | -,079 | ,527 | ,005 | ,969 |
| Anos de menopausa (anos) | -,253 | ,039 | -,004 | ,977 |
| Perfil glicídico | | | | |
| Hb1AC ^a | 0,000 | 0,998 | 0,188 | 0,127 |
| Glicemia de jejum ^a | -0,188 | 0,127 | 0,124 | 0,317 |
| Insulina | ,109 | ,379 | ,171 | ,167 |
| Perfil lipídico | | | | |
| Colesterol total | -,085 | ,493 | -,277* | ,023 |
| HDL | ,101 | ,414 | -,184 | ,136 |
| LDL | -,078 | ,529 | -,286* | ,019 |
| Triglicérides ^a | -,138 | ,267 | ,082 | ,511 |
| Outros aspectos bioquímicos | | | | |
| Fosfatase alcalina ^a | -,097 | ,436 | -,107 | ,388 |
| Cálcio Total | -,221 | ,072 | -,016 | ,900 |
| Fósforo | -,092 | ,460 | ,015 | ,906 |
| Proteína C reativa ^a | ,277* | ,023 | ,143 | ,248 |
| Aspectos hormonais | | | | |
| 25OH-Vitamina D | -,012 | ,925 | ,059 | ,633 |
| FSH | -,071 | ,567 | -,073 | ,555 |
| Estradio ^l | ,193 | ,118 | ,243* | ,047 |
| PTH ^a | -,043 | ,730 | ,009 | ,942 |
| Aspectos antropométricos | | | | |
| Peso corporal (kg) | ,503** | ,000 | ,382** | ,001 |
| Altura (m) | ,255* | ,038 | ,114 | ,359 |
| IMC (Kg/m ²) | ,423** | ,000 | ,366** | ,002 |
| Circunferência da cintura (cm) ^l | ,400** | ,001 | ,411** | ,001 |
| Circunferência abdominal (cm) | ,339** | ,005 | ,271* | ,026 |
| Circunferência do quadril (cm) | ,416** | ,000 | ,329** | ,007 |
| Circunferência do braço (cm) | ,462** | ,000 | ,370** | ,002 |

^aVariáveis com distribuição não-normal, sendo utilizado o coeficiente de correlação (rho) de Spearman. Para as demais variáveis, foi-se utilizado o coeficiente de correlação de Pearson.

^lN=64. Faltam dados de 3 pessoas que compõem o grupo DMO normal tanto para colo do fêmur, quanto para coluna lombar.

*A correlação é significativa no nível 0,05 (2 extremidades). **A correlação é significativa no nível 0,01 (2 extremidades).

Legenda: FSH, hormônio folículo-estimulante; Hb1AC, hemoglobina glicada; HDL, lipoproteína de alta densidade; IMC, índice de massa corporal; LDL, lipoproteína de baixa densidade; PTH, paratormônio.

Quanto às correlações com a massa mineral óssea da coluna lombar (vértebras L1-L4), observou-se que as variáveis antropométricas apresentam fraca correlação estatisticamente significativa (**tabela 3, coluna à direita**). O CT e LDL apresentaram correlação negativa significativa de fraca força com a massa mineral óssea da coluna lombar. Por fim, apesar de os níveis de estradiol não terem apresentado correlação significativa com a massa mineral óssea do colo do fêmur, houve fraca correlação positiva significativa com os valores de massa mineral óssea da coluna lombar.

Por fim, foi realizada regressão linear múltipla para verificar se as variáveis antropométricas, os níveis de PCR, CT, LDL e os níveis de estradiol, bem como a idade, anos de menopausa, etnia e prática de exercício físico, eram previsores da massa mineral óssea do colo do fêmur e da coluna lombar. Para o colo do fêmur, a análise de regressão resultou em um modelo estatisticamente significativo [$F(2,64)=16,126$; $p<0,001$; $R^2=0,335$], mostrando que o peso corporal ($\beta=0,496$; $t=4,870$; $p<0,001$) e os níveis de estradiol ($\beta=0,287$; $t=2,818$; $p=0,006$) preveem em 33,5% a variabilidade da massa mineral óssea do colo do fêmur. A equação geral preditora para a DMO do colo do fêmur é $[0,554 + (0,004*\text{peso corporal}) + (0,001*\text{estradiol})]$. Para a coluna lombar, a análise de regressão resultou em um modelo significativo [$F(2,64)=1,297$; $p<0,001$; $R^2=0,261$], mostrando que o peso corporal ($\beta=0,428$; $t=3,949$; $p<0,001$) e os níveis de LDL ($\beta=-0,343$; $t=-3,161$; $p=0,002$) preveem em 26,1% a variabilidade da massa mineral óssea da coluna lombar. A equação geral preditora para a DMO da coluna lombar é $[0,851 + (0,005*\text{peso corporal}) - (0,001*\text{LDL})]$.

DISCUSSÃO

O presente estudo investigou possíveis associações e correlações de diversos parâmetros sociais e clínicos com a DMO do colo do fêmur e da coluna lombar em idosas de ancestralidade miscigenada, ativas, praticantes de exercício físico, e que estavam matriculadas em uma unidade de ensino em Salvador-BA. A DMO está sob influência multifatorial, podendo ser modulada por fatores intrínsecos do organismo, a exemplo de níveis séricos de diferentes hormônios, bem como por fatores extrínsecos, como hábitos de vida¹⁰⁻¹⁵.

Variáveis antropométricas vs. DMO

Nossos resultados mostraram que as variáveis antropométricas apresentaram correlação positiva moderada com a DMO do colo do fêmur e correlação positiva fraca com a DMO da coluna lombar de idosas com etnia mista. Estudos prévios na literatura encontraram na gordura corporal um fator de proteção contra a perda mineral óssea em mulheres após a menopausa, justificando esse achado por meio de influências mecânicas e hormonais do tecido adiposo no metabolismo ósseo ^{81,111,112}.

Dando suporte aos nossos achados, um estudo de corte transversal recente no Reino Unido demonstrou que indivíduos obesos apresentaram maior DMO, em qualquer faixa etária analisada, quando comparados com indivíduos eutróficos ¹⁶. Outro estudo realizado na República da China com 3.953 mulheres entre 41 a 95 anos de idade encontrou que valores de IMC elevados estavam positivamente associados com a massa mineral óssea da coluna lombar ⁷². Um estudo brasileiro realizado com 588 mulheres pós-menopáusicas também encontrou uma influência positiva da gordura corporal em diferentes sítios ósseos, visto que, quanto maior era a distribuição de gordura, maiores eram os valores de DMO no colo do fêmur, no trocânter e na coluna lombar ¹⁵.

Nossos achados da regressão linear múltipla demonstraram que, dentre todas as variáveis antropométricas investigadas, o peso corporal foi o fator preditor mais forte para variabilidade da DMO, sendo maior para a DMO do colo do fêmur do que para a DMO da coluna lombar. De fato, a depender da localização anatômica, os ossos estão submetidos a diferentes cargas mecânicas e, logo, podem apresentar respostas diferentes à influência do peso corporal ¹¹³. Adicionalmente, há relatos na literatura científica de que o efeito protetor do aumento de gordura corporal sobre a DMO parece ser seletivo, protegendo alguns sítios ósseos, enquanto deixam outros mais vulneráveis à perda de massa mineral ^{74,84}.

Clinicamente, deve-se ter cautela ao considerar que o aumento da gordura corporal tem benefícios para a saúde óssea de idosos. Em excesso, e quando consideradas outras variáveis, como hábitos alimentares e sedentarismo, o tecido adiposo pode apresentar atividade pró-inflamatória e contribuir para a reabsorção óssea, além do desenvolvimento e agravamento de inúmeras doenças metabólicas, como diabetes mellitus e doenças cardiovasculares ^{12,79}.

Perfil lipídico vs. DMO

Nossos resultados mostraram que os níveis de CT e de LDL estão negativamente correlacionados com a massa mineral da coluna lombar, ou seja, quanto maior os níveis de CT e LDL, menor é a DMO nesta região. Na regressão linear multivariada, o LDL se mostrou predictor apenas para a variabilidade da DMO da coluna lombar. Não houve correlação significativa de nenhuma variável do perfil lipídico com a massa mineral óssea do colo do fêmur.

Diversos autores têm buscado compreender a influência do perfil lipídico na DMO. Alguns autores relatam que a dislipidemia possui fraca ou moderada correlação com a DMO, de forma que maiores níveis de CT, LDL e/ou TG estão associados a uma menor massa óssea ^{67,70,72,114}. Um estudo realizado com 200 mulheres hispânicas pós-menopáusicas encontrou que, quanto maiores os níveis de CT, LDL e TG, menor era a DMO na coluna lombar, no fêmur proximal e quadril ⁶⁷. Esses mesmos autores não encontraram correlações significantes entre os níveis de HDL e DMO nessa amostra estudada. Contrariamente, um estudo com 170 mulheres iranianas pós-menopáusicas, com 50 a 70 anos de idade, demonstrou que o perfil lipídico não apresentava associação significativa com a DMO do colo do fêmur ou da coluna lombar ⁶⁹.

Estudos mais recentes apresentam resultados complexos, propondo que correlações entre o perfil lipídico e DMO dependem de parâmetros biológicos, como o sexo, a faixa etária e os níveis hormonais do grupo amostral ^{72,73}. Um estudo chinês com 1116 mulheres (adultas e idosas, categorizadas em grupos pré e pós-menopáusicas) demonstrou que apenas em mulheres pós-menopáusicas os níveis LDL estavam positivamente correlacionados com a DMO do colo de fêmur, enquanto que os níveis de HDL estavam negativamente correlacionados com a DMO do colo de fêmur e do quadril total. Não houve qualquer correlação significativa entre essas variáveis com a massa mineral dos sítios ósseos investigados nas mulheres pré-menopáusicas ⁷³, sugerindo que faixa etária e níveis de estrógeno influenciam diretamente nas correlações do perfil lipídico com a DMO.

A influência estrogênica no perfil lipídico e DMO já havia sido relatada previamente por ⁷⁰. Estes autores compararam o perfil lipídico e a DMO de diferentes sítios em 497 mulheres australianas com idade entre 20 a 81, categorizadas em 3 grupos (pré-menopáusicas, pós-menopáusicas em uso de TRH, e pós-menopáusicas sem uso de

TRH). Após análise de regressão linear, esses autores observaram que os níveis de CT e LDL estavam negativamente correlacionados com a DMO da coluna lombar e de corpo total apenas em mulheres pós-menopáusicas sem uso de TRH ⁷⁰, o que assemelha-se com nossos achados, provavelmente por nossa população de estudo ser predominantemente formada por idosas, com mais de 10 anos de pós-menopausa e com baixos níveis séricos de estradiol.

Perfil glicídico vs. DMO

Vários estudos relatam os diversos mecanismos pelos quais a hiperglicemia descontrolada pode prejudicar o metabolismo ósseo, principalmente devido à formação de produtos de glicação avançada e resistência insulínica ^{13,115}. Um estudo chinês recente realizado com 187 pacientes portadores de diabetes mellitus tipo 2 (DM2), ambos os sexos, com idade ≥ 50 anos, relatou que os pacientes com pobre controle glicêmico (Hb1AC > 9,0%) apresentavam menor massa mineral óssea em coluna lombar e colo de fêmur do que diabéticos controlados (Hb1AC < 9,0%) ¹¹⁵.

Por outro lado, um estudo considerado pioneiro em avaliar os efeitos da hiperglicemia descontrolada nos parâmetros ósseos utilizou dados do *Rotterdam Study* de 4.135 indivíduos categorizados em 3 grupos: não diabéticos, diabetes controlado, e diabetes não-controlado. Esses autores encontraram que os indivíduos com diabetes não-controlado apresentavam maiores parâmetros de massa óssea e de estabilidade óssea quando comparados aos grupos não diabéticos e com diabetes controlado adequadamente. Apesar de um aparente efeito positivo no osso, os indivíduos com diabetes não-controlado apresentavam maiores riscos de fraturas ósseas, provavelmente devido à má qualidade do material ósseo desse grupo ¹⁴.

Nossos resultados não evidenciaram correlação significativa entre as variáveis do perfil glicídico (Hb1AC, glicemia e insulina de jejum) com a DMO do colo do fêmur e da coluna lombar. Esses resultados são semelhantes aos achados de outro estudo brasileiro realizado em 42 pacientes adultos portadores de DM2, o qual observou ausência de correlação significativa entre glicemia, Hb1AC e DMO do colo do fêmur e da coluna lombar, mesmo em indivíduos com pobre controle glicêmico ¹¹⁶. Os autores argumentam que outros fatores poderiam estar se sobrepondo aos efeitos glicêmicos, a exemplo dos hormônios que podem influenciar positivamente no metabolismo ósseo e,

consequentemente, na DMO.

Aspectos hormonais vs. DMO

O efeito anabólico e protetor dos esteroides sexuais femininos, particularmente os estrógenos, no tecido ósseo, é amplamente discutido na literatura científica ^{117,118}. Nossos resultados mostraram fraca correlação positiva e significativa entre os níveis de estradiol e a massa mineral óssea da coluna lombar. Interessante notar que, apesar dessa correlação positiva, os níveis de estradiol não pareceram ser importantes previsores da variabilidade da massa mineral óssea da coluna lombar. Por outro lado, não houve correlação significativa entre os níveis de estradiol e a massa mineral óssea do colo do fêmur, porém esse fator mostrou-se ser predictor de uma pequena parcela da variabilidade da massa mineral nesse sítio ósseo.

Diferenças na força e na significância das correlações entre os níveis séricos de estradiol com a massa mineral óssea do colo do fêmur e da coluna lombar talvez possam ser explicadas por diferenças no mecanismo de perda óssea após a menopausa em mulheres (osteoporose pós-menopausa versus osteoporose senil) ^{119,120}. Por exemplo, sabe-se que, no período perimenopausa e pós-menopausa recente, o declínio da massa mineral óssea na coluna é maior do que no fêmur proximal, inclusive sendo as vértebras os locais mais frequentes de fraturas ósseas nesse período ¹²¹.

Outro fator que pode ter influenciado a força da correlação nos nossos resultados foi o perfil das participantes da nossa pesquisa, quanto à homogeneidade dos níveis séricos de estradiol. Nossa população de estudo era formada por mulheres idosas, com idade igual ou superior a 60 anos, sendo que a maioria das participantes apresentavam níveis plasmáticos baixos de estrógenos, próximos a 10 pg/mL. Isso pode ter contribuído para a fraca força e mesmo a ausência de correlação entre estradiol com a massa mineral óssea da lombar e colo de fêmur, respectivamente. Mesmo estando presente em baixos níveis nas nossas idosas, nossos resultados mostraram a influência do estrógeno no metabolismo ósseo, visto sua capacidade em prever a variabilidade da massa óssea no colo do fêmur.

Correlações inversas entre FSH e massa e volume ósseos foram encontradas em idosos de ambos os sexos (238 mulheres e 245 homens) na Islândia ¹²². Um outro

estudo anterior mostrou que os níveis de FSH, mais do que os de estradiol, eram previsores mais sensíveis de perda de DMO em mulheres na pré e perimenopausa inicial ¹¹⁸. Apesar dessas correlações positivas na literatura científica, um outro estudo recente realizado na China não encontrou qualquer correlação entre FSH com a massa ou o volume mineral ósseo medidos por DEXA ou por tomografia computadorizada quantitativa (QCT) em idosos de ambos os sexos ¹²³. Semelhante a esse último estudo, nossos resultados não demonstraram correlações entre FSH e DMO do colo de fêmur ou da coluna lombar.

Além de mudanças na síntese e secreção de estrógenos sexuais na senescência, também são relatadas na literatura científica alterações na síntese e secreção de vitamina D e PTH ¹¹. A justificativa fisiológica se baseia na redução funcional de diversos tecidos do corpo, dentre eles, pele e rins, levando à diminuição da síntese endógena da vitamina D e de seus metabólitos ativos. Isso contribui para um distúrbio no metabolismo do cálcio em idosos, que conseqüentemente levaria a um aumento da secreção de PTH e, logo, redução da DMO ^{58,124}. Nosso estudo não evidenciou correlações significantes entre os níveis séricos de 25(OH)-vitamina D ou de PTH com a DMO do colo do fêmur ou da coluna lombar. Contudo, um dado interessante é que, de maneira geral, a nossa população apresentou níveis suficientes de vitamina D para a faixa etária (>30ng/mL), conforme recomendações da Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia ¹²⁵. Esses níveis suficientes de 25(OH)-vitamina D em idosos também foram encontrados em outro estudo, evidenciando que esses níveis eram maiores em idosos do que na população mais jovem ¹²⁶.

PCR vs. DMO

Nosso estudo mostrou que os níveis séricos de PCR estão positivamente correlacionados com a massa mineral óssea do colo do fêmur. Não houve correlação significativa entre os níveis séricos de PCR com a massa mineral óssea da coluna lombar.

Um estudo prévio realizado em 65 mulheres idosas com idade ≥ 65 anos com dados do NHANES III (*Third National Health and Nutrition Examination Survey*) encontrou fraca correlação inversa entre os níveis de PCR e a DMO do quadril, porém sem significância estatística quando ajustadas as variáveis confundidoras (idade, IMC, uso de TRH, dentre outras) ¹²⁷. Um estudo de corte transversal mais recente também

com dados do NHANES analisou os dados de 10.475 indivíduos adultos (≥ 20 anos) de ambos os sexos. Nesse estudo, os níveis de PCR também estavam inversamente associados à DMO em todos os sítios ósseos estudados de maneira dose dependente ¹²⁸. Por outro lado, um estudo com 1870 idosas suecas da coorte OPRA (*Malmö Osteoporosis Prospective Risk Assessment*) demonstrou que os níveis de PCR estavam positivamente correlacionados com DMO e com menor risco de fraturas osteoporóticas¹²⁹. Contudo, se esses altos níveis de PCR persistirem por um longo período (cinco anos), a perda óssea nas idosas nesse intervalo é maior do que nas idosas que apresentavam menores valores de PCR ¹²⁹.

Mais recentemente, um estudo do Reino Unido realizado em 190 indivíduos, ambos os sexos, na faixa etária entre 18-80 anos, investigou possíveis correlações entre IMC, gordura corporal e diversas citocinas inflamatórias e anti-inflamatórias com os valores de *T-score* e *Z-score* ¹⁶. Surpreendentemente, os resultados mostraram que citocinas inflamatórias e outros mediadores químicos conhecidos pelo seu efeito absorptivo no osso (G-CSF, TNF, IL-1 β , IL-6, MCP-1 β) apresentavam correlação positiva com a DMO. Os autores argumentam que a influência do exercício físico, realizado pelos sujeitos da pesquisa, aparentemente se sobrepôs aos efeitos deletérios dessas citocinas no osso ¹⁶.

Até o presente momento, não há uma justificativa científica biomolecular que embase uma correlação positiva entre PCR e DMO. Sabe-se que os níveis de PCR estão aumentados quanto há aumento da gordura corporal ^{12,79}. Nossos resultados mostraram que, apesar da correlação positiva entre os níveis de PCR e DMO do colo do fêmur, a PCR não se mostrou ser um fator preditor da massa mineral nesse sítio ósseo. Além disto, observamos correlação positiva de força moderada a fraca entre os valores de PCR com os parâmetros antropométricos (resultados não apresentados). Assim, supomos que a correlação positiva da PCR com a massa mineral do colo do fêmur pode estar ocorrendo por efeito de colinearidade com as variáveis antropométricas.

Um ponto forte do nosso estudo foi a possibilidade de analisar múltiplos fatores capazes de influenciar a DMO em idosas ativas e de etnia mista. Noventa por cento das participantes da pesquisa eram idosas praticantes de atividade física, o que, conforme sugerido em estudos prévios, pode atenuar os efeitos deletérios da PCR, do hipostrogenismo e do próprio envelhecimento no metabolismo ósseo ^{16,130}.

CONCLUSÃO

Nossos resultados sugerem que, dentre todas as variáveis analisadas, os parâmetros antropométricos apresentaram maior correlação com a massa mineral óssea do colo do fêmur do que com a coluna lombar em mulheres idosas ativas fisicamente e de etnia miscigenada. Foi demonstrado que o peso corporal foi o principal previsor da variabilidade da massa óssea do colo do fêmur e da coluna lombar. Além disso, os níveis de estradiol e os níveis de LDL parecem ser, em menor grau, previsores da variabilidade da massa mineral óssea do colo do fêmur e da coluna lombar, respectivamente, nesse grupo amostral.

6.2 ARTIGO 2

Associação entre polimorfismos de nucleotídeo único dos genes da osteoprotegerina e RANKL e densidade mineral óssea em idosas de Salvador, Bahia**RESUMO**

Introdução: A osteoporose é o distúrbio osteometabólico mais prevalente em idosos, sendo a principal causa de fratura em indivíduos desse grupo populacional, comprometendo sua qualidade de vida. A perda de massa óssea é decorrente do desequilíbrio entre a taxa de síntese e reabsorção óssea, com predominância do processo reabsortivo. O sistema RANK/RANKL/OPG tem papel central no metabolismo ósseo, e numerosos estudos mostram que polimorfismos em genes envolvidos com esse sistema contribuem para a redução da densidade mineral óssea (DMO). **Objetivos:** Investigar a associação entre a DMO e polimorfismos do gene *TNFRSF11B*, que codifica a osteoprotegerina (OPG), e do gene *TNFSF11*, que codifica o ligante do RANK (RANKL) em idosas de ancestralidade mista em Salvador-BA. **Métodos:** Estudo de corte transversal, que incluiu 65 idosas matriculadas em uma unidade de ensino em Salvador, Bahia. Foram realizados entrevista e exame físico para obtenção dos dados sociodemográficos e clínicos das participantes da pesquisa; exames bioquímicos de sangue para dosagem de biomoléculas; e densitometria óssea do colo do fêmur e da coluna lombar. Os SNPs para genotipagem, a partir do DNA genômico, foram rs2062377, rs3102735, rs6469804, rs9594738, rs9525641. O nível de significância estatística considerado nos testes estatísticos foi $p \leq 0,05$. **Resultados:** Não houve associação significativa entre os genótipos e alelos dos SNPs estudados entre os grupos DMO normal e DMO baixa tanto para o colo do fêmur quanto para a coluna lombar. Observamos que o alelo C-rs9594738 esteve mais frequente em indivíduos com DMO baixa na coluna lombar, porém sem atingir significância estatística ($p=0,059$). Os genótipos TT-rs9594738 e TT9525641 não foram preditores de risco para DMO baixa nas idosas. Observou-se que o grupo DMO normal tanto para o colo do fêmur, quanto para coluna lombar foi composto de mais indivíduos em uso contínuo de fármacos anti-hipertensivos quando comparados ao grupo DMO baixa ($p < 0,001$ e $p = 0,002$, respectivamente). **Conclusão:** Nenhum dos SNPs do estudo parece contribuir para a variabilidade da DMO nos sítios ósseos investigados. No entanto, o uso de anti-hipertensivos parece ser o principal fator que reduz as chances de perda de DMO no colo do fêmur e na coluna lombar em idosas fisicamente ativas e de ancestralidade mista.

Palavras-chave: Densidade mineral óssea. Idosas. Polimorfismo de nucleotídeo único (SNP). Anti-hipertensivos.

INTRODUÇÃO

A osteoporose, caracterizada por redução da densidade mineral óssea (DMO), é o distúrbio osteometabólico mais prevalente em idosos, sendo a causa principal de fratura óssea em indivíduos desse grupo populacional ^{4,23-25,131}. Idosos com fraturas vertebrais osteoporóticas têm menor qualidade de vida, devido à perda progressiva de mobilidade, da interação social, e devido à dor crônica, o que repercute nas funções mentais e na percepção que o indivíduo tem de sua própria saúde ^{26,27}.

Com o envelhecimento populacional global, as fraturas decorrentes da osteoporose têm contribuído com altas taxas de morbimortalidade em idosos e com altos custos para o setor de saúde ⁵⁻⁷. Sua etiologia está associada a diversos fatores, dentre eles, alterações metabólicas e endócrinas, decorrentes de fatores genéticos e/ou ambientais ⁸⁻¹⁰.

A densidade mineral óssea (DMO) é uma característica altamente hereditária, com herdabilidade entre 50 – 80% ⁸⁶. Polimorfismos de genes relacionados ao metabolismo ósseo têm sido associados a doenças osteolíticas, como a osteoporose, contribuindo para a compreensão da patogênese e variabilidade dessa manifestação clínica de alta frequência na população idosa ^{19,20,32,33}. A realização de estudos de associação entre polimorfismos genéticos e doenças crônicas depende do conhecimento da distribuição dos alelos potencialmente de risco na população estudada.

Numerosos estudos prévios com camundongos mutantes com deleção nos genes *TNFSF11* (RANKL), *TNFRSF11A* (RANK) e *TNFRSF11B* (osteoprotegerina, OPG) mostraram o papel central do sistema RANKL/RANK/OPG na determinação da DMO ³⁹. Nas últimas duas décadas, estudos de associação *genome wide* (GWAS) e meta-análises desses GWAS têm demonstrado grande associação de alguns SNPs presentes em regiões próximas ou dentro do gene *TNFSF11* (RANKL) e *TNFRSF11B* (OPG) com risco de osteoporose e fraturas ósseas ^{19,33,89,90}.

Em virtude da existência de diversos fatores que influenciam o metabolismo ósseo e de resultados conflitantes na literatura científica, este estudo visou investigar a associação entre a DMO e polimorfismos do gene *TNFRSF11B*, que codifica a osteoprotegerina (OPG), e do *TNFSF11*, que codifica o ligante do RANK (RANKL),

em idosas de Salvador, Bahia. Parâmetros metabólicos e antropométricos também foram investigados, para avaliação de efeitos confundidores.

MATERIAL E MÉTODOS

Delineamento do estudo e Aspectos éticos

Este é um estudo de corte transversal aprovado pelo comitê de ética e pesquisa da Universidade do Estado da Bahia (UNEB), Salvador, Bahia (CAAE: 32401614.6.0000.0057). Todas as etapas e os procedimentos da pesquisa seguiram as normas e condutas estabelecidas pela Declaração de Helsinki e a Resolução 466/2012. Os indivíduos que expressaram disponibilidade e vontade de participar assinaram termo de consentimento livre e esclarecido. O desenho experimental está ilustrado na **figura 1**.

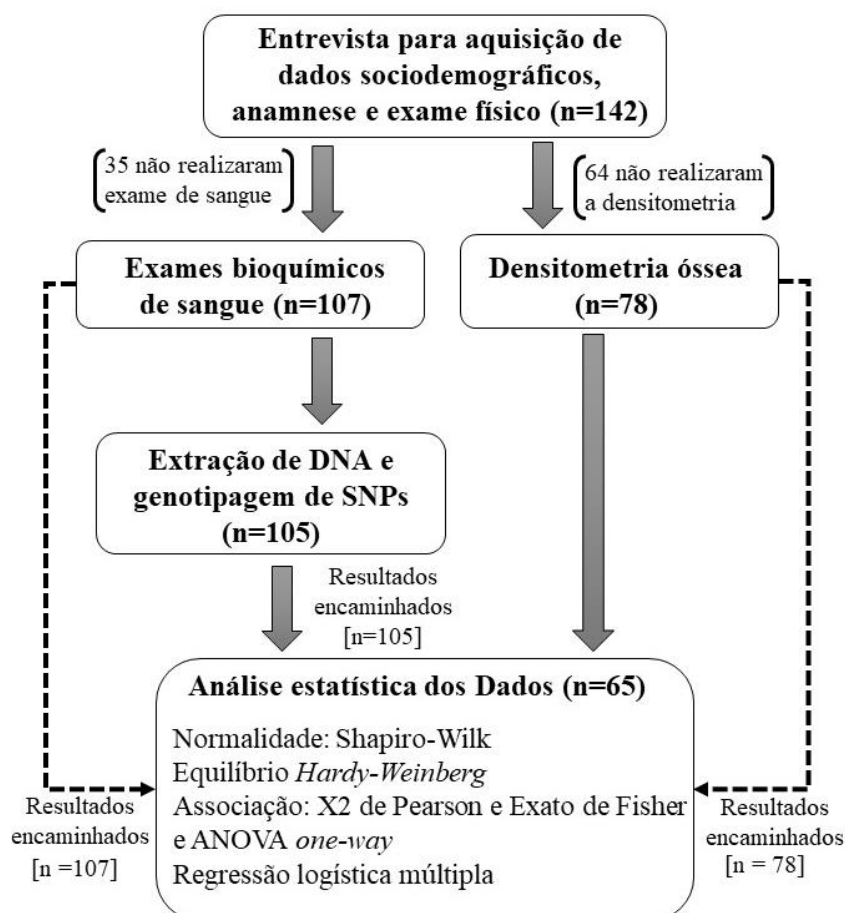


Figura 1. Fluxograma com o desenho do estudo.

Participantes da pesquisa e Exame físico

Foram recrutadas 142 idosas matriculadas na Universidade Aberta à Terceira Idade, em Salvador, Bahia. Os critérios de inclusão eram pertencer ao sexo feminino e ter 60 anos ou mais. Das 142 idosas entrevistadas, 107 realizaram a coleta de sangue periférico para dosagem de biomoléculas no sangue, e a genotipagem de SNPs ocorreu de forma bem-sucedida em 105 amostras de sangue das participantes da pesquisa. Foram excluídas do estudo pessoas com histórico de câncer (< 5 anos); indivíduos afetados por doença renal aguda ou crônica, e portadores de artrite reumatoide. Não foram excluídas pessoas em uso de terapia de reposição hormonal (TRH), ou com uso regular de fármacos que alterem o metabolismo ósseo, como, por exemplo, bifosfonados, uso contínuo de anti-hipertensivos, corticosteroides, anticoagulantes ou anticonvulsivantes, sendo essas informações devidamente consideradas na análise estatística dos dados.

Sessenta e cinco idosas foram incluídas neste estudo, pois realizaram todos os procedimentos experimentais: a entrevista, o exame físico, a densitometria óssea, os exames de sangue e a genotipagem de SNPs, requisitados para o cruzamento dos dados na análise estatística. Informações sociodemográficas e clínicas das idosas foram obtidas por meio de questionário estruturado aplicado por profissional técnico previamente treinado. No exame físico, foi mensurado o peso corporal (kg) com balança digital (Toledo®). A pressão arterial pulsátil foi aferida com auxílio de esfigmomanômetro (Bic®) e estetoscópio (Littmann®), seguindo as orientações da VI Diretrizes da Sociedade Brasileira de Hipertensão ¹³².

Medidas de DMO

A DMO foi mensurada pelo exame de densitometria óssea do colo do fêmur e da coluna lombar (L1-L4), utilizando a técnica *Dual-Energy X-ray Absorptiometry* (DEXA), que expressa a quantidade de mineral nos tecidos ósseos trabeculares em gramas por centímetro quadrado escaneado (g/cm^2) (29). O aparelho utilizado para a realização do exame foi o *Lunar Prodigy Primo*, e o software para análise foi o enCORE, ambos da GE Healthcare (Univen Healthcare Ltda, Curitiba-PA, Brasil). Para categorização das idosas em grupos, foram utilizados os resultados do escore T (ΔT), sendo considerado $\Delta T > -1,0$ para DMO normal, e $\Delta T \leq -1,0$ para DMO baixa, tanto para o colo do fêmur quanto para a coluna lombar. Além disso, os dados obtidos de massa

mineral óssea também foram utilizados como variáveis contínuas para investigar possíveis associações com os genótipos dos SNPs deste estudo.

Coleta de sangue e Exames bioquímicos

Foi realizada a coleta de sangue venoso periférico com a voluntária em jejum para dosagem dos níveis séricos de: 25(OH)-vitamina D (método quimioluminescência); paratormônio (PTH), hormônio folículo estimulante (FSH) e estradiol (método quimioluminescência); colesterol total (CT), lipoproteína de alta densidade (HDL) e triglicerídeos (método enzimático/automatizado); e lipoproteína de baixa densidade (LDL, fórmula de Friedewald).

Análise genética

O DNA genômico foi extraído a partir de amostra de sangue venoso usando o kit de extração *PureLink® Genomic DNA Mini Kit (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)* seguindo as instruções do fabricante. A quantificação (ng) e pureza (260/280: 1,6 a 2,0) do DNA extraído foi realizada por espectrofotometria usando *Nanodrop™ One/One^C (Thermo Scientific™, Applied Biosystems, Foster City, CA, USA)*. Após diluição das amostras de DNA com água ultrapura para padronização na concentração de 5ng/μL, uma alíquota de 1,0μL de cada amostra foi transferida para poços na placa de 384-poços específicas para a genotipagem. Em cada poço, foi adicionado 9,0 μL de ensaio TaqMan® pré-desenhado para genotipagem (*Thermo Scientific™, Applied Biosystems, Foster City, CA, USA*) com os primers e as sondas de cada SNP. No total, foram escolhidos 5 SNPs: três SNPs estão localizados no 8q.24, nas proximidades ou dentro do *COLEC10/TNFRSF11B*, que codifica a OPG (rs2062377A/T, ID:C__1970989_10; rs3102735C/T, ID:C__1971046_10; e rs6469804A/G, ID:C__1968557_10); e dois SNPs estão localizados no 13q14 nas proximidades do *TNFSF11B* que codifica o RANKL (rs9594738C/T, ID: C__30459982_20; e rs9525641C/T, ID:C__30171941_10). O volume final em cada poço da placa de 384 foi de 10μL, sendo constituído de DNA, água ultrapura, *Mastermix TaqMan®* para genotipagem e o ensaio (sondas e primers) TaqMan® para genotipagem. A amplificação e a leitura dos genótipos dos SNPs foram realizadas por reação em cadeia da polimerase em tempo real (RT-PCR), utilizando o *Quantstudio 6 Flex® (Thermo Scientific™, Applied Biosystems, Foster City, CA, USA)*.

Análise estatística dos dados

A análise dos dados foi realizada utilizando o programa *Statistical Package for Social Sciences for Windows* versão 21.0 (SPSS Inc., Chicago, USA). Teste de normalidade Shapiro-Wilk foi realizado para as variáveis contínuas, sendo os dados apresentados como média e desvio padrão (DP), quando a distribuição foi normal, ou mediana e intervalo interquartil (IIQ), para os dados com distribuição não-normal. Dados de variáveis categóricas foram apresentados como frequências absoluta (n) e relativa (%). Testes do X^2 de Pearson e Exato de Fisher foram utilizados para verificar associação de variáveis categóricas entre os grupos DMO normal e DMO baixa para colo de fêmur e coluna lombar. O teste T de Student (paramétrico) e teste de Mann-Whitney (não paramétrico) foram utilizados para verificar associação de variáveis contínuas entre os grupos DMO normal e DMO baixa para colo de fêmur e coluna lombar.

As frequências genotípicas dos SNPs foram testadas quanto ao Equilíbrio de Hardy-Weinberg (HWE) pelo *software* Winpepi, versão 11.65. Para a comparação dos valores quantitativos de massa mineral óssea do colo do fêmur e da coluna lombar entre os genótipos de cada SNP, foi realizada a análise de variância de uma via (ANOVA *one-way*). Significância estatística foi considerada quando $p \leq 0,05$.

Foi realizada a regressão logística múltipla para analisar se as variáveis investigadas no estudo eram preditoras de baixa DMO no colo do fêmur e/ou na colunar. As possíveis variáveis preditoras inseridas na regressão foram as que atingiram nível de significância $p \leq 0,25$ nas análises univariadas, bem como a idade, anos decorridos desde a menopausa, e os níveis séricos de estradiol, devido a sua importância clínica no metabolismo ósseo.

RESULTADOS

Nossos resultados demonstram que, das 65 idosas incluídas no estudo, 31 (47,7%) apresentaram DMO normal e 34 (52,3%) apresentaram DMO baixa para colo do fêmur. Ao se observar os resultados da densitometria óssea para a coluna lombar (vértebras L1-L4), 35 (53,8%) apresentaram DMO normal e 30 (46,2%) apresentaram DMO baixa. A

tabela 1 mostra os valores de tendência central (média, DP, ou mediana, IIQ) e frequências absolutas (n) e relativas (%) de diversas variáveis sociodemográficas e clínicas entre os subgrupos DMO normal e DMO baixa para o colo de fêmur (**coluna central**) e para a coluna lombar (**coluna à direita**).

Observando os grupos categóricos para os resultados de colo do fêmur (**tabela 1, coluna central**), a maioria das idosas tanto no grupo DMO normal quanto DMO baixa se autodeclararam pardas, eram praticantes de atividade física ao menos duas vezes na semana, não faziam uso de TRH e nem de bifosfonados. O número de indivíduos diabéticos, em uso de estatinas ou com suplementação de vitamina D, não diferiram entre os grupos estudados. Houve diferença significativa no número de indivíduos em uso de anti-hipertensivos, no qual o grupo DMO normal possuiu mais idosas em uso contínuo desses fármacos (83,9%) do que o grupo DMO baixa no colo do fêmur (47,1%, $p=0,002$). A média do peso corporal foi significativamente maior no grupo DMO normal [peso=71,381 (10,937)kg] quando comparado ao grupo DMO baixa [peso=63,888 (10,836)kg, $p=0,007$]. Não houve diferenças estatísticas na média de idade, anos decorridos desde a menopausa, níveis séricos de hormônios e de colesterol entre os grupos DMO normal e DMO baixa (**tabela 1**).

Tabela 1. Dados sociodemográficos e clínicos das voluntárias da pesquisa distribuídas em grupos de acordo com os resultados da densitometria óssea de colo de fêmur (DMO normal ou baixa) e de coluna lombar L1-L4 (DMO normal ou baixa).

| | COLO DE FÊMUR (n=65) | | | | | COLUNA LOMBAR L1-L4 (n=65) | | | | |
|---|----------------------|----------|------------------|----------|---------|----------------------------|----------|------------------|----------|---------|
| | DMO normal (n=31) | | DMO baixa (n=34) | | p-valor | DMO normal (n=35) | | DMO baixa (n=30) | | p-valor |
| VARIÁVEIS CONTÍNUAS | Média ou Mediana | (DP/IIQ) | Média ou Mediana | (DP/IIQ) | | Média ou Mediana | (DP/IIQ) | Média ou Mediana | (DP/IIQ) | |
| Idade (anos) ^a | 68 | 6 | 68 | 7,3 | 0,612 | 67 | 5 | 69 | 8,3 | 0,539 |
| Anos de menopausa (anos) ^a | 19 | 9 | 18 | 7 | 0,864 | 17 | 9 | 20 | 8 | 0,228 |
| Massa mineral - Fêmur (g/cm ²) | 0,948 | 0,083 | 0,081 | 0,087 | 0,000* | 0,932 | 0,09 | 0,830 | 0,112 | 0,000* |
| Massa mineral - Lombar (g/cm ²) | 1,127 | 0,112 | 0,984 | 0,133 | 0,000* | 1,153 | 0,077 | 0,934 | 0,104 | 0,000* |
| PAM (mmHg) ^a | 93,33 | 10 | 93,33 | 10,83 | 0,672 | 95 | 10 | 93,33 | 10 | 0,214 |
| 25OH-Vitamina D | 33,9 | 7,1 | 31,6 | 5,9 | 0,159 | 33,3 | 7,1 | 31,9 | 5,9 | 0,383 |
| FSH ^a | 60,8 | 38,4 | 57,4 | 41,1 | 0,618 | 62 | 39,1 | 56,9 | 32,1 | 0,772 |
| Estradiol ^a | 10 | 3,9 | 10 | 3,4 | 0,832 | 10 | 6 | 10 | 0 | 0,012* |
| PTH ^a | 34,7 | 17,2 | 35,9 | 12,5 | 0,823 | 36,6 | 14 | 34,8 | 21,1 | 0,927 |
| CT | 213,3 | 44,5 | 220,2 | 51,2 | 0,562 | 203,8 | 41,9 | 232,1 | 50,6 | 0,016* |
| LDL | 133,7 | 38,4 | 137,3 | 46,9 | 0,739 | 125,1 | 35,1 | 147,9 | 48 | 0,036* |
| HDL ^a | 58 | 20 | 58 | 15,5 | 0,880 | 56 | 22 | 62,5 | 13,5 | 0,055 |
| Triglicerídeos | 112,7 | 52,8 | 114,3 | 49,4 | 0,905 | 117,8 | 49,8 | 108,5 | 52 | 0,418 |
| Peso | 71,381 | 10,937 | 63,888 | 10,836 | 0,007* | 70,471 | 11,885 | 63,949 | 9,972 | 0,021* |
| VARIÁVEIS CATEGÓRICAS | N | % | N | % | p-valor | N | % | N | % | p-valor |
| Cor da Pele | | | | | | | | | | |
| branca | 5 | 16,1% | 4 | 11,8% | 0,546 | 7 | 20,0% | 2 | 6,7% | 0,506 |
| preta | 12 | 38,7% | 10 | 29,4% | | 11 | 31,4% | 11 | 36,7% | |
| parda | 14 | 45,2% | 20 | 58,8% | | 17 | 48,6% | 16 | 56,6% | |
| Exercício Físico | | | | | | | | | | |
| sim | 27 | 87,1% | 32 | 94,1% | 0,413 | 31 | 88,6% | 28 | 93,3% | 0,678 |
| Diabetes Mellitus tipo 2 | | | | | | | | | | |
| sim | 3 | 9,7% | 6 | 17,6% | 0,480 | 5 | 14,3% | 4 | 13,3% | 1 |
| Anti-hipertensivos | | | | | | | | | | |
| sim | 26 | 83,9% | 16 | 47,1% | 0,002 | 30 | 85,7% | 12 | 40,0% | 0,000 |
| TRH | | | | | | | | | | |
| sim | 3 | 9,7% | 0 | 0 | 0,103 | 3 | 8,6% | 0 | 0% | 0,243 |
| Suplementação de Vitamina D | | | | | | | | | | |
| sim | 15 | 48,4% | 16 | 47,1% | 0,915 | 16 | 45,7% | 15 | 50,0% | 0,730 |
| Bifosfonados | | | | | | | | | | |
| sim | 1 | 3,2% | 5 | 14,2% | 0,200 | 2 | 5,7% | 4 | 13,3% | 0,403 |
| Estatinas | | | | | | | | | | |
| sim | 13 | 41,9% | 16 | 47,1% | 0,678 | 16 | 45,7% | 13 | 43,3% | 0,847 |

^aVariáveis com distribuição não-normal. Seus valores estão espessos como mediana (IIQ). Utilizado o teste de Mann-Whitney para comparação das medianas entre os grupos. Para as outras variáveis foi utilizado para comparação das médias das variáveis contínuas foi o teste T de Student. *Para ambos os testes, o nível O teste utilizado para comparação das frequências das variáveis categóricas foi o teste associação X² de Pearson e, quando indicado, o Exato de Fisher. *Nível de significância estatística p<0,05.

Legenda: CT, colesterol total; DMO, densidade mineral óssea; DP, desvio padrão; FSH, hormônio folículo estimulante; HDL, lipoproteína de alta densidade; IIQ, intervalo interquartil; LDL, lipoproteína de baixa densidade; PAM, pressão arterial média; PTH, paratormônio; TRH, terapia de reposição hormonal.

Quanto à comparação entre os grupos referentes à DMO da coluna lombar (**tabela 1, coluna à direita**), os resultados foram semelhantes aos do colo do fêmur quanto à autorreferida, à prática de exercício físico, quanto à suplementação de vitamina D e quanto ao uso de fármacos, sem diferenças significantes entre os grupos DMO normal e DMO baixa. Igualmente, houve diferença significativa no número de indivíduos em uso de anti-hipertensivos, no qual o grupo DMO normal era composto de mais idosos em uso contínuo desses fármacos (85,7%) do que o grupo DMO baixa na coluna lombar

(40,0%, $p < 0,001$). O grupo DMO normal apresentou maior média de peso corporal [peso=70,471(11,885)kg], quando comparado ao grupo DMO baixa [peso=63,949(9,972)kg; $p=0,021$]. Além disso, também observou-se que os níveis de estradiol eram maiores no grupo DMO normal [mediana=10(6)pg/mL] do que no grupo DMO baixa [mediana=10(0)pg/mL; $p=0,012$], e que a média dos valores de CT e LDL foram maiores no grupo DMO baixa [CT=232,1(50,6) mg/dL; LDL=147,9(48,0)mg/dL] quando comparado ao grupo DMO normal na coluna lombar [CT=203,8(41,9)mg/dL, $p=0,016$; LDL=125,1(35,1)mg/dL, $p=0,036$] (**tabela 1, coluna à direita**).

Os SNPs e seus respectivos genótipos estudados nesse trabalho foram rs2062377 (AA, AT, TT), rs3102735 (CC, CT, TT), rs9594738 (CC, CT, TT), rs9525641 (CC, CT,TT) e rs6469804 (GG, GA, AA), estando todos eles em equilíbrio de Hardy-Weinberg. A taxa de amplificação entre os polimorfismos variou de 98,5% a 100%. A **tabela 2** apresenta as frequências genóticas e alélicas dos SNPs distribuídos entre os grupos DMO normal e DMO baixa no colo do fêmur. Não houve diferenças significantes entre a frequência dos genótipos ou entre as frequências alélicas quando comparados os grupos DMO normal e DMO baixa para o colo do fêmur. Abaixo, seguem as frequências dos genótipos e alelos de cada SNP entre os grupos DMO normal e DMO baixa no colo do fêmur.

No rs2062377, a frequência do genótipo AA foi de 61,3% no grupo DMO normal e 52,9% no DMO baixa, sendo a frequência do alelo A de 77,4% e 72,1%, nos grupos citados, respectivamente. No rs3102735, o genótipo TT foi de 61,3% no grupo DMO normal e 64,7% no DMO baixa, com frequência alélica T de 79% e 82,4%, respectivamente. No rs9594738, o genótipo heterozigoto CT foi 46,7%, e o CC foi 40% no grupo DMO normal, enquanto que, no grupo DMO baixa, o CT e CC apresentaram a mesma frequência genotípica (44,1%), logo sendo a frequência do alelo C maior do que a do alelo T em ambos os grupos (DMO normal=63,3%; e DMO baixa=66,2%). No rs9525641, o genótipo heterozigoto CT foi de 48,4% em DMO normal e 64,7% em DMO baixa, sendo suas frequências alélicas bem equilibradas (alelo C = 50% e 52,9% nos grupos DMO normal e baixa, respectivamente). Por fim, no rs6469804, a frequência do genótipo AA foi de 64,5% no grupo DMO normal e 61,8% no DMO baixa, sendo a frequência do alelo A de 77,4% e 61,8%, respectivamente (**tabela 2**).

A **tabela 3** apresenta as frequências genóticas e alélicas dos SNPs distribuídos

entre os grupos DMO normal e DMO baixa na coluna lombar, sendo o padrão de distribuição muito semelhante à distribuição dos genótipos e alelos apresentados na tabela 2, para o colo do fêmur. A exceção a esse padrão apareceu no rs9594738, cuja frequência do alelo C no grupo DMO normal foi de 57,4% e DMO baixa foi de 73,3% ($p=0,059$), porém não podemos descartar a probabilidade de essa diferença ser atribuída ao acaso.

Tabela 2. Distribuição genotípica e alélica da população em estudo categorizada em grupo DMO normal e DMO baixa do colo do fêmur.

| COLO DO FÊMUR | | | | | | | | | | | | | | |
|----------------------------|-------------------|------------|------------|------------|--------------------|------------|------------------|------------|------------|------------|--------------------|----------------|----------|--------------------|
| SNP (Taxa de amplificação) | DMO NORMAL | | | | | | DMO BAIXA | | | | | p-valor | | |
| | n | Genótipo | | | Frequência alélica | | n | Genótipo | | | Frequência alélica | | Genótipo | Frequência alélica |
| | | n(%) | n(%) | n(%) | n(%) | n(%) | | n(%) | n(%) | n(%) | n(%) | | | |
| rs2062377 (100%) | AA | AT | TT | A | T | AA | AT | TT | A | T | | | | |
| n=65 | 19 (61,3%) | 10 (32,3%) | 2 (6,5%) | 48 (77,4%) | 14 (22,6%) | 18 (52,9%) | 13 (32,8%) | 3 (8,8%) | 49 (72,1%) | 19 (27,9%) | 0,803 | 0,483 | | |
| rs3102735 (100%) | CC | CT | TT | C | T | CC | CT | TT | C | T | | | | |
| n = 65 | 1 (3,2%) | 11 (35,5%) | 19 (61,3%) | 13 (21%) | 49 (79%) | 0 (0%) | 12 (35,3%) | 22 (64,7%) | 12 (17,6%) | 56 (82,4%) | 0,893 | 0,631 | | |
| rs9594738 (98,5%) | CC | CT | TT | C | T | CC | CT | TT | C | T | | | | |
| n = 64 | 12 (40%) | 14 (46,7%) | 4 (13,3%) | 38 (63,3%) | 22 (36,7%) | 15 (44,1%) | 15 (44,1%) | 4 (11,8%) | 45 (66,2%) | 23 (33,8%) | 0,941 | 0,737 | | |
| rs9525641 (100%) | CC | CT | TT | C | T | CC | CT | TT | C | T | | | | |
| n = 65 | 8 (25,8%) | 15 (48,4%) | 8 (25,8%) | 31 (50%) | 31 (50%) | 7 (20,6%) | 22 (64,7%) | 5 (14,7%) | 36 (52,9%) | 32 (47,1%) | 0,377 | 0,738 | | |
| rs6469804 (100%) | GG | GA | AA | G | A | GG | GA | AA | G | A | | | | |
| n = 65 | 3 (9,7%) | 8 (25,8%) | 20 (64,5%) | 14 (22,6%) | 48 (77,4%) | 3 (8,8%) | 10 (29,4%) | 21 (61,8%) | 16 (23,5%) | 52 (76,5%) | 0,930 | 0,898 | | |

Teste estatístico realizado: ANOVA *one-way*. Significância estatística considerada quando $p \leq 0,05$.

Tabela 3. Distribuição genotípica e alélica da população em estudo categorizada em grupo DMO normal e DMO baixa da coluna lombar (L1-L4).

| COLUNA LOMBAR (L1-L4) | | | | | | | | | | | | | | |
|------------------------------|-------------------|------------|------------|------------|--------------------|------------|------------------|------------|------------|------------|--------------------|----------------|----------|--------------------|
| SNP (Taxa de amplificação) | DMO NORMAL | | | | | | DMO BAIXA | | | | | p-valor | | |
| | n | Genótipo | | | Frequência alélica | | n | Genótipo | | | Frequência alélica | | Genótipo | Frequência alélica |
| | | n(%) | n(%) | n(%) | n(%) | n(%) | | n(%) | n(%) | n(%) | n(%) | | | |
| rs2062377 (100%) | AA | AT | TT | A | T | AA | AT | TT | A | T | | | | |
| n=65 | 21 (60%) | 10 (28,6%) | 4 (11,4%) | 52 (74,3%) | 18 (25,7%) | 16 (53,3%) | 13 (43,3%) | 1 (3,3%) | 45 (75%) | 15 (25%) | 0,348 | 0,926 | | |
| rs3102735 (100%) | CC | CT | TT | C | T | CC | CT | TT | C | T | | | | |
| n = 65 | 1 (2,9%) | 12 (34,3%) | 22 (62,9%) | 14 (20%) | 56 (80%) | 0 (0%) | 11 (36,7%) | 19 (63,3%) | 11 (18,3%) | 49 (81,7%) | 1 | 0,810 | | |
| rs9594738 (98,5%) | CC | CT | TT | C | T | CC | CT | TT | C | T | | | | |
| n = 64 | 11 (32,4%) | 17 (50%) | 6 (17,6%) | 39 (57,4%) | 29 (42,6%) | 16 (53,3%) | 12 (40%) | 2 (6,7%) | 44 (73,3%) | 16 (26,7%) | 0,196 | 0,059 | | |
| rs9525641 (100%) | CC | CT | TT | C | T | CC | CT | TT | C | T | | | | |
| n = 65 | 7 (20%) | 21 (60%) | 7 (20%) | 35 (50%) | 35 (50%) | 8 (26,7%) | 16 (53,3%) | 6 (20%) | 32 (53,3%) | 28 (46,7%) | 0,804 | 0,705 | | |
| rs6469804 (100%) | GG | GA | AA | G | A | GG | GA | AA | G | A | | | | |
| n = 65 | 4 (11,4%) | 8 (22,9%) | 23 (65,7%) | 16 (22,9%) | 54 (77,1%) | 2 (6,7%) | 10 (33,3%) | 18 (60%) | 14 (23,3%) | 46 (76,7%) | 0,689 | 0,949 | | |

Teste estatístico realizado: ANOVA *one-way*. Significância estatística considerada quando $p \leq 0,05$.

Ao investigarmos possíveis associações entre os genótipos de cada SNP com a massa mineral óssea do colo do fêmur e da coluna lombar com a ANOVA *one-way*, não foi observada significância estatística (tabela 4).

Tabela 4. Análise de variância entre os os genótipos dos SNPs do estudo com os valores de massa mineral óssea do colo do fêmur e da coluna lombar.

| SNP | COLO DO FÊMUR | | | COLUNA LOMBAR | | |
|--------------------------------------|--|-------|---------|--|-------|---------|
| | massa mineral óssea (g/cm ²) | | p-valor | massa mineral óssea (g/cm ²) | | p-valor |
| | média | (DP) | | média | (DP) | |
| rs2062377 (COLEC10/TNFRSF11B) | | | | | | |
| AA | 0,895 | 0,105 | 0,458 | 1,054 | 0,154 | 0,321 |
| AT | 0,864 | 0,098 | | 1,031 | 0,108 | |
| TT | 0,859 | 0,115 | | 1,137 | 0,187 | |
| rs3102735 (COLEC10/TNFRSF11B) | | | | | | |
| CC | 0,902 | - | 0,939 | 1,114 | - | 0,855 |
| CT | 0,886 | 0,119 | | 1,043 | 0,161 | |
| TT | 0,878 | 0,095 | | 1,056 | 0,134 | |
| rs9594738 (TNFSF11) | | | | | | |
| CC | 0,876 | 0,104 | 0,797 | 1,031 | 0,138 | 0,120 |
| CT | 0,876 | 0,103 | | 1,043 | 0,150 | |
| TT | 0,902 | 0,100 | | 1,146 | 0,099 | |
| rs9525641 (TNFSF11) | | | | | | |
| CC | 0,874 | 0,108 | 0,228 | 1,034 | 0,150 | 0,839 |
| CT | 0,869 | 0,105 | | 1,060 | 0,143 | |
| TT | 0,925 | 0,084 | | 1,051 | 0,139 | |
| rs6469804 (COLEC10/TNFRSF11B) | | | | | | |
| GG | 0,872 | 0,109 | 0,584 | 1,103 | 0,187 | 0,546 |
| GA | 0,862 | 0,105 | | 1,030 | 0,098 | |
| AA | 0,892 | 0,103 | | 1,055 | 0,153 | |

O teste utilizado para comparação das médias entre os grupos de genótipos foi a análise de variância de uma via (ANOVA *one-way*). Nível de significância estatística $p \leq 0,05$.

Legenda: DP, desvio padrão.

A análise de regressão logística múltipla foi realizada para verificar se idade, anos decorridos desde a menopausa, etilismo, exercício físico, níveis séricos de vitamina D, estradiol, CT, LDL, HDL, peso corporal, e estar em uso de anti-hipertensivos eram preditores para a redução da DMO no colo do fêmur. Também foram inseridos, na análise de regressão, os genótipos do rs9525641, sendo agrupados os genótipos CC e CT e utilizados como referência em comparação com o genótipo TT. Dentre todas as variáveis analisadas, o modelo contendo “uso de anti-hipertensivos” e o “peso corporal” foi significativo [$X^2(2)=17,265$;

$p < 0,001$; $R^2_{\text{Negelkerke}} = 0,311$]. O uso de anti-hipertensivos foi o preditor mais significativo para a DMO do colo do fêmur, pois, segundo o modelo, o uso destes fármacos reduz em 84,8% as chances de as idosas terem DMO baixa (OR=0,152; IC 95%=0,043-0,544). O peso corporal também foi um preditor significativo, de modo que, quanto maior o peso em quilogramas, as chances de as idosas apresentarem DMO baixa no colo do fêmur reduzem em 6,5% (OR=0,935; IC 95%=0,888-0,985).

Para verificar possíveis preditores para a DMO da coluna lombar, foi realizada a regressão logística múltipla com as variáveis: idade, anos decorridos desde a menopausa, etilismo, exercício físico, níveis séricos de vitamina D, estradiol, CT, LDL, HDL, peso corporal, e uso de anti-hipertensivos. Também foi inserida na regressão, a pressão arterial média e os genótipos do rs9594738, sendo os genótipos de referência o CC e CT agrupados. Dentre as variáveis analisadas, o modelo contendo o uso contínuo de anti-hipertensivos foi significativo [$X^2(1) = 17,356$; $p < 0,001$; $R^2_{\text{Negelkerke}} = 0,317$]. Segundo o modelo, o uso de fármacos anti-hipertensivos reduz em 91,1% as chances de as idosas apresentarem DMO baixa na coluna lombar (OR=0,089; IC 95%=0,025-0,318).

DISCUSSÃO

Polimorfismos genéticos e DMO

O presente estudo visou investigar possíveis associações entre os SNPs em genes envolvidos diretamente com a sinalização celular para a atividade osteoclástica [rs2062377 (OPG), rs3102735 (OPG), rs6469804 (OPG), rs9594738 (RANKL), e rs9525641 (RANKL)] e a DMO do colo do fêmur e da coluna lombar em idosas com ancestralidade miscigenada. Os referidos SNPs estão presentes em regiões não codificadoras, como regiões intrônicas (rs2062377 e rs6469804), ou são variantes gênicas *upstream* (5') da região transcrita do gene (rs3102735, rs9594738, e rs9525641) ¹⁰¹. Nossos resultados não mostraram associação significativa entre a frequência dos genótipos e alelos dos SNPs estudados em indivíduos com DMO normal e baixa do colo do fêmur ou da coluna lombar. Observamos que o alelo C-rs9594738 esteve mais frequente em indivíduos com DMO baixa na coluna lombar, porém atribuímos ao acaso esse achado devido à ausência de significância estatística. Também não

houve associação significativa entre os genótipos e a média dos valores de massa mineral óssea do colo do fêmur ou da coluna lombar.

Até o presente momento, estudos de associação em escala genômica (GWAS) e meta-análises têm descoberto diversos loci associados à DMO e osteoporose ⁹⁰. Dois estudos GWAS realizados com a população caucasiana europeia (islandesa e dinamarquesa) e australiana encontraram que o rs9594738 apresentou grande força de associação com a DMO, sendo o T-rs9594378 o alelo de risco para redução da massa óssea na coluna lombar ^{91,92}. Outro GWAS que investigou a associação entre SNPs e DMO em três grupos populacionais do leste da Ásia também mostrou que o alelo T-rs9594738 estava associado a menores valores de DMO na coluna lombar ⁸⁹. Diferente do que foi previamente relatado, observamos que o genótipo TT-rs9594738 apresentou maior média dos valores de massa óssea da coluna lombar, apesar de não haver atingido o nível de significância exigido. No entanto, para investigar se esse genótipo confere alguma proteção na DMO da coluna lombar nas participantes da nossa pesquisa, realizamos a análise de regressão logística. Nossos resultados demonstraram que o genótipo TT-rs9594738 não promoveu qualquer efeito na DMO da coluna lombar.

Na meta-análise de larga escala a partir de cinco GWAS que incluiu 19.195 adultos caucasianos descendentes europeus (ambos os sexos, ≥ 18 anos), foram sugeridos novos marcadores genéticos associados à DMO do fêmur e da coluna lombar. Dentre os SNPs estudados, o rs2062377 (relacionado ao gene *TNFRSF11B*) estava associado com a DMO da coluna lombar com significância estatística no nível *genome-wide* ¹³³. Esta meta-análise e outros GWAS realizados na época observaram associação negativa entre o alelo T-rs2062377 com a DMO da coluna lombar em indivíduos asiáticos e caucasianos europeus ^{89,92,133}. Uma segunda meta-análise que incluiu 17 GWAS, englobando 50.933 descendentes europeus e do leste da Ásia, observou a associação do rs2062377 com a DMO do colo do fêmur, além da associação previamente relatada com a DMO da coluna lombar ¹⁹. Apesar de ser importante marcador genético para indivíduos caucasianos e orientais, ainda não há estudos no nível populacional que investiguem marcadores genéticos para a DMO e osteoporose em populações com as características étnicas e raciais semelhantes às da nossa população de estudo, brasileira e com idosas predominantemente de ancestralidade mista. Em nosso estudo, não encontramos associação significativa entre os genótipos e alelos dos SNPs rs2062377 com a DMO do colo do fêmur ou da coluna lombar em idosas miscigenadas.

Em menor escala de tamanho amostral, pesquisadores de todo o mundo têm realizado estudos com genes candidatos, investigando a associação entre SNPs e DMO em indivíduos de diferentes nacionalidades. Um estudo recente com 372 mulheres árabes pós-menopáusicas (50-90 anos) ¹³⁴ e um estudo eslovaco com 327 mulheres pós-menopáusicas (43-86 anos) ¹³⁵ investigaram a associação entre o rs3102735 e a DMO da coluna lombar e fêmur. Semelhante aos nossos resultados, esses autores não encontraram diferenças significantes das frequências genótípicas e alélicas do rs3102735 entre o grupo de mulheres com DMO baixa e DMO normal ^{134,135}. Por outro lado, diferente dos nossos achados, um estudo chinês com 416 mulheres pós-menopáusicas mostrou que o rs3102735 apresentava associação significativa com a DMO do quadril ⁹⁷. O estudo brasileiro de Pereira et al. ³² (2016) com 815 participantes, de ambos os sexos, com idade ≥ 65 anos, demonstrou que o alelo T-rs3102735 esteve associado com menor frequência de osteoporose na população estudada ³². Interessante notar que, mesmo este último estudo sendo brasileiro e incluir apenas pessoas idosas, as características da amostra estudada diferiu da nossa, visto que, em nosso estudo, as participantes eram mulheres idosas miscigenadas e afrodescendentes, enquanto que, no estudo de Pereira, a amostra foi composta de caucasianos e incluiu indivíduos do sexo masculino ³².

O rs9525641 também se mostrou associado à DMO em estudos prévios. Em mulheres pós-menopáusicas eslovenas, foi observado que o genótipo TT-rs9525641 estava associado a maiores valores de DMO no colo do fêmur ⁹⁸. Sugere-se que a presença do alelo T-rs9525641 exerce papel protetor na massa óssea ^{20,99}, visto que ele está presente em um haplótipo relacionado a uma menor atividade promotora do *TNFSF11* ⁹⁹. Em nosso estudo, observamos maiores valores de massa óssea do fêmur em indivíduos com genótipo TT-rs9525641, porém na análise de regressão, a presença deste genótipo não apresentou ser um fator protetor importante para a DMO do colo do fêmur.

Por fim, tanto em GWAS prévios e em estudos com genes candidatos, observou-se associação significativa entre rs6469804 e a DMO da coluna lombar em caucasianos europeus e indivíduos orientais, sendo A-rs6469804 o alelo de risco para menor DMO ^{89,92,97,100,133}. Nossos resultados não mostraram diferenças significantes entre a frequência dos genótipos e alelos do rs6469804 nos grupos DMO normal e baixa, seja no colo do fêmur ou na coluna lombar de idosas com ancestralidade miscigenada.

Diversos fatores podem ter influenciado para a ausência de associação significativa entre os SNPs investigados no nosso estudo e a DMO. Um dos fatores é a diferença étnica/racial

das nossas participantes de pesquisa quando comparadas às populações dos estudos GWAS e às amostras dos estudos com genes candidatos realizados em todo o mundo. Já é relatado na literatura que a susceptibilidade para o desenvolvimento de doenças conferidas por SNPs é influenciada pela ancestralidade ¹⁰⁹. Outro fator que também pode ter influenciado para a ausência de significância estatística foi o tamanho amostral (n=65) do nosso estudo. Por isso, é importante a realização de futuros estudos com a inclusão de mais participantes para aumentar o poder dos testes estatísticos. Além disso, outros aspectos intrínsecos do organismo, como o peso corporal, perfil hormonal e metabólico, e mesmo o uso de fármacos indicados para o tratamento de doenças crônicas, utilizados pelas idosas, podem ter se sobreposto à influência genética na massa mineral óssea.

Hipertensão e DMO

Nossos resultados mostraram que o grupo DMO normal era composto de mais indivíduos em uso de anti-hipertensivos do que o grupo DMO baixa tanto no colo do fêmur quanto para coluna lombar. Observamos que, nos registros dos questionários das participantes do nosso estudo, todas as idosas hipertensas faziam uso regular de fármacos anti-hipertensivos há pelo menos dez anos, e as classes de fármacos mais utilizadas foram bloqueadores dos receptores de angiotensina II (AT_{1R}-bloqueadores), diuréticos tiazídicos e afins, e bloqueadores dos receptores β 1-adrenérgicos (β 1-bloqueadores). Poucas idosas também usavam bloqueadores dos canais de cálcio (resultados não apresentados).

Há relatos na literatura científica sobre os efeitos da hipertensão arterial sistêmica (HAS) no metabolismo ósseo, aumentando o risco para perda mineral óssea e fraturas. Os mecanismos deletérios da HAS no osso podem estar atrelados aos seus efeitos calciúricos nos rins, ao aumento do tônus simpático com maior ativação dos receptores β 2 nos osteoclastos, ou via angiotensina II, que também aumenta atividade osteoclástica ^{136,137}. Sugere-se que o uso de anti-hipertensivos a longo prazo promove efeitos protetores no osso, e pesquisas na área têm proposto numerosos mecanismos pelos quais estes fármacos poderiam mediar esses efeitos ^{137,138}. A relação entre hipertensão, uso contínuo de anti-hipertensivos e DMO é bastante complexa, e futuros estudos com a categorização das diferentes classes de anti-hipertensivos e a DMO poderão auxiliar a esclarecer a relação entre esses fármacos e metabolismo ósseo. Apesar de não ter sido o foco principal do estudo, nossos resultados

mostraram que o uso contínuo de anti-hipertensivos foi o preditor mais importante para DMO da coluna lombar e do colo do fêmur, de modo a contribuir para redução de perda óssea em idosas.

O ponto forte do nosso estudo foi a quantidade de variáveis investigadas e utilizadas nas análises de associação e regressão, levando em consideração fatores intrínsecos, como aspectos hormonais, lipídicos, antropométricos, genéticos, bem como fatores extrínsecos, como hábitos de vida e uso de fármacos que coletivamente podem influenciar na determinação da DMO.

CONCLUSÃO

Os diferentes alelos e genótipos dos SNPs estudados não parecem ter contribuição na DMO do fêmur ou da coluna lombar em idosas fisicamente ativas e de ancestralidade mista. A ausência de significância estatística nas análises de associação entre os SNPs deste estudo com a DMO pode ter sido influenciada pelos aspectos étnicos/raciais, bem como pelo tamanho amostral e por outros aspectos intrínsecos e extrínsecos das participantes da pesquisa. Além disso, o uso de fármacos anti-hipertensivos esteve significativamente associado a maiores valores de DMO tanto do colo do fêmur quanto da coluna lombar, prevendo menor chances de perda de massa mineral em ambos os sítios ósseos em idosas.

Díscussão

7 DISCUSSÃO

Pudemos observar no **artigo 1** que, dentre as diversas variáveis investigadas na nossa população de estudo, todas as variáveis antropométricas apresentaram correlação positiva com a DMO do colo do fêmur e coluna lombar de maneira significativa. Além das variáveis antropométricas, também houve correlação positiva entre os níveis de PCR com a DMO do colo do fêmur e entre os níveis de estradiol com a DMO da coluna lombar. Os níveis de CT e LDL estiveram negativamente correlacionados com a DMO da coluna lombar. Entre as variáveis que apresentaram correlações significantes com a DMO, apenas o peso corporal e os níveis de estradiol parecem prever a variabilidade da massa mineral óssea do colo do fêmur. Para a coluna lombar, apenas o peso corporal e os níveis de LDL parecem prever a variabilidade da massa mineral desse sítio ósseo.

Sabe-se que existe heterogeneidade óssea em resposta a diversos estímulos, dentre eles os hormonais. Por exemplo, os ossos vertebrais são mais sensíveis à perda óssea do que o fêmur após a menopausa, período em que as mulheres apresentam queda brusca na síntese de estradiol^{9,29,43}. Apesar de ser um dos mais potentes estímulos osteoprotetores, nossos achados de correlação entre estradiol e DMO da coluna lombar foram de fraca força, e sua contribuição como previsor de massa mineral óssea no colo do fêmur foi pequena. Acreditamos que esse pequeno efeito no metabolismo ósseo em nossos achados seja justificado pelo perfil da nossa amostra, que incluiu idosas, com idade igual ou superior a 60, com níveis plasmáticos de estradiol baixos e relativamente homogêneos (próximos a 10 pg/mL).

Na prática clínica, as medidas de peso, altura, o cálculo do IMC, CC, CA, CQ e, em alguns casos a CB, dentre outras, são amplamente utilizadas para se estimar a distribuição de gordura corporal e o estado nutricional do indivíduo. Atrêlam-se maiores valores dessas medidas com maior quantidade de gordura, a qual está associada à inflamação crônica de baixo grau, que leva a um aumento nos níveis séricos de citocinas inflamatórias e PCR^{12,79}. Nossos resultados do **artigo 1** mostraram uma correlação positiva intrigante entre os níveis de PCR e DMO do colo do fêmur, enquanto que, normalmente, os estudos mostram correlação inversa entre essas variáveis^{127,128}. Até o presente momento, nós, autores deste trabalho, desconhecemos uma explicação molecular para a correlação positiva entre PCR e DMO. Contudo, como relatado em outro estudo, outros fatores talvez possam se sobrepor aos efeitos

deletérios da PCR no metabolismo ósseo, a exemplo da prática regular de atividade física, a qual pode induzir ao aumento da síntese de citocinas anti-inflamatórias que têm efeito protetor sobre o osso ¹⁶.

Por fim, os resultados do **artigo 1** mostraram correlação negativa entre CT, LDL e massa óssea da coluna lombar. Em baixos níveis séricos de estrógeno, como ocorre em idosas e mulheres pós-menopáusicas sem uso de TRH, observa-se que o perfil lipídico apresenta correlação negativa com a DMO da coluna lombar ⁷⁰, o que corrobora com nossos achados.

No **artigo 2**, investigamos possíveis associações entre os SNPs em genes envolvidos na sinalização celular para a atividade osteoclástica [rs2062377 (OPG), rs3102735 (OPG), rs6469804 (OPG), rs9594738 (RANKL), e rs9525641 (RANKL)] com a DMO do colo do fêmur e da coluna lombar. Em nossos resultados, não observamos associação significativa entre os genótipos e alelos dos SNPs estudados entre os indivíduos com DMO normal e baixa dos sítios investigados. Considerando os valores de massa mineral óssea, observamos que o genótipo TT-rs9525641 (RANKL) apresentou maiores valores de massa óssea do fêmur, e que o TT-rs9594738 (RANKL) apresentou maiores valores de massa óssea da coluna lombar, porém sem significância estatística. Chamamos a atenção para estes resultados devido a estudos prévios relatarem que o alelo T-rs9525641 foi considerado um fator protetor para a DMO, e que o genótipo TT-rs9525641 esteve associado a maiores valores de DMO no colo do fêmur ^{20,98}, o que corrobora com nossos achados. No entanto, para o rs9594738, os relatos na literatura são de que o alelo T-rs9594738 está associado a menores valores de DMO da coluna lombar em GWAS prévios, em populações europeias e asiáticas ^{89,91}, indo de encontro aos nossos achados. De qualquer forma, após análise de regressão logística, observamos que a presença desses genótipos não pareceu exercer qualquer influência nas chances de proteger a perda óssea no colo do fêmur ou na coluna lombar nas idosas participantes do nosso estudo.

Um achado interessante no **artigo 2** foi a grande quantidade de indivíduos em uso contínuo de anti-hipertensivos nos grupos DMO normal quando comparada ao grupo DMO baixa, tanto para o colo do fêmur quanto para a coluna lombar. Esforços têm sido feitos para compreender se uso de anti-hipertensivos a longo prazo promove efeitos protetores no osso ^{137,138}. Em nosso 2º artigo, não propomos como objetivo investigar associação entre os fármacos anti-hipertensivos utilizados pelos sujeitos da pesquisa, mas temos esses registros para futuros estudos que venham trazer maiores esclarecimentos sobre essa associação encontrada entre as diferentes classes desses fármacos e DMO.

Conclusão

8 CONCLUSÃO

Nossos resultados sugerem que, dentre todas as variáveis analisadas, os parâmetros antropométricos apresentaram maior correlação com a massa mineral óssea do colo do fêmur e da coluna lombar em mulheres idosas fisicamente ativas de ancestralidade mista. Foi demonstrado que o peso corporal e, principalmente, o uso de fármacos anti-hipertensivos foram os principais previsores da variabilidade da massa óssea do colo do fêmur, diminuindo as chances de perda mineral neste sítio ósseo. Para a coluna lombar, apenas o uso de fármacos anti-hipertensivos parece reduzir as chances de as idosas apresentarem DMO baixa nesse sítio ósseo. Além disso, os níveis de estradiol e os níveis de LDL parecem ser, em menor grau, previsores da variabilidade dos valores de massa mineral óssea do colo do fêmur e da coluna lombar, respectivamente, no nosso grupo amostral.

Não foi observada associação significativa entre a frequência dos genótipos e alelos dos SNPs investigados com a DMO, tanto do colo do fêmur quanto da coluna lombar. Contudo, os resultados referentes à associação entre os SNPs estudados e a DMO devem ser olhados com bastante cautela, pois a ancestralidade, o pequeno tamanho amostral e a análise conjunta dos outros fatores intrínsecos e extrínsecos ao indivíduo podem coletivamente ter contribuído para a ausência de significância estatística.

Os resultados obtidos no artigo 1 e 2 reforçam que a DMO é uma característica que está sob influências multifatoriais, difíceis de serem analisadas isoladamente. Profissionais da área de saúde, principalmente aqueles da atenção básica, devem estar cientes dos diversos parâmetros biológicos que conferem risco para o desenvolvimento da osteoporose, identificando a presença dessa doença antes da ocorrência de fraturas osteoporóticas. Conforme apresentado anteriormente ao longo deste trabalho, as fraturas osteoporóticas promovem importantes repercussões na qualidade de vida do idoso, além de sobrecarregar o sistema de saúde com grande número de internamentos e altos custos em diversos países. Prevenindo-se a osteoporose, reduz-se a ocorrência de fraturas osteoporóticas, o que irá conferir melhor qualidade de vida à população idosa e diminuirá a sobrecarga sobre os sistemas de saúde.

REFERÊNCIAS

1. Teixeira INDO, Guariento ME. *Biologia do envelhecimento: teorias, mecanismos e perspectivas*. Ciênc Saúde Colet. 2010 set;15:2845-57.
2. Barbé-Tuana F, Funchal G, Schmitz CRR, Maurmann RM, Bauer ME. The interplay between immunosenescence and age-related diseases. *Semin Immunopathol*. 2020 Oct;42(5):545-57.
3. Franceschi C, Garagnani P, Morsiani C, Conte M, Santoro A, Grignolio A, et al. The continuum of aging and age-related diseases: common mechanisms but different rates. *Front Med*. 2018;5:61.
4. Consensus development conference: Diagnosis, prophylaxis, and treatment of osteoporosis. *Am J Med*. 1993 June;94(6):646-50.
5. Kanis JA, Cooper C, Rizzoli R, Reginster JY. European guidance for the diagnosis and management of osteoporosis in postmenopausal women. *Osteoporos Int*. 2019 Jan;30(1):3-44.
6. Kemmak AR, Rezapour A, Jahangiri R, Nikjoo S, Farabi H, Soleimanpour S. Economic burden of osteoporosis in the world: a systematic review. *Med J Islam Repub Iran [Internet]*. 2020 nov 12 [citado 2022 jan 28];34:154. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7787041/>
7. Moraes LFS, Silva EN da, Silva DAS, Paula AP de. Gastos com o tratamento da osteoporse em idosos do Brasil (2008 - 2010): análise dos fatores associados. *Rev Bras Epidemiol*. 2014 set;17:719-34.
8. Pinheiro MM, Ciconelli RM, Martini LA, Ferraz MB. Clinical risk factors for osteoporotic fractures in Brazilian women and men: the Brazilian Osteoporosis Study (BRAZOS). *Osteoporos Int*. 2008 July;20(3):399.
9. Radominski SC, Bernardo W, Paula AP de, Albergaria BH, Moreira C, Fernandes CE, et al. Brazilian guidelines for the diagnosis and treatment of postmenopausal osteoporosis. *Rev Bras Reumatol Engl Ed*. 2017;57:452-66.
10. Wong SK, Chin KY, Suhaimi FH, Ahmad F, Ima-Nirwana S. The Relationship between Metabolic Syndrome and Osteoporosis: A Review. *Nutrients*. 2016 June;8(6):347.
11. Bhattarai HK, Shrestha S, Rokka K, Shakya R. Vitamin D, Calcium, Parathyroid Hormone, and Sex Steroids in Bone Health and Effects of Aging. *J Osteoporos*. 2020 June; 2020:1-10.
12. Cao JJ. Effects of obesity on bone metabolism. *J Orthop Surg*. 2011 June;6(1):30.
13. Cipriani C, Colangelo L, Santori R, Renella M, Mastrantonio M, Minisola S, et al. The interplay between bone and glucose metabolism. *Front Endocrinol [Internet]*. 2020 Mar 24 [citado 2022 Jan 11];11:122. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fendo.2020.00122/full>
14. Oei L, Zillikens M, Dehghan A, Buitendijk G, Betancourt M, Estrada K, et al. High bone

mineral density and fracture risk in type 2 diabetes as skeletal complications of inadequate glucose control the rotterdam study. *Diabetes Care*. 2013 Jan;36.

15. Silva HGV da, Mendonça LMC, Conceição FL, Zahar SEV, Farias MLF. Influence of obesity on bone density in postmenopausal women. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2007 Ago;51:943-9.
16. Tomlinson DJ, Erskine RM, Morse CI, Onambélé GL. Body Fat Percentage, body mass index, fat mass index and the ageing bone: their singular and combined roles linked to physical activity and diet. *Nutrients*. 2019 Jan;11(1):195.
17. Edwards D, Forster JW, Chagné D, Batley J. What Are SNPs? In: Oraguzie NC, Rikkerink EHA, Gardiner SE, De Silva HN, organizadores. *Association Mapping in Plants* [Internet]. New York, NY: Springer; 2007 [citado 2022 Mar 01]. p. 41-52. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-0-387-36011-9_3
18. Shastry BS. SNPs: Impact on gene function and phenotype. In: Komar AA, organizador. *Single nucleotide polymorphisms: methods and protocols* [Internet]. Totowa, NJ: Humana Press; 2009 [citado 2022 Feb 28]. p. 3-22. (Methods in Molecular Biology™). Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-1-60327-411-1_1
19. Estrada K, Styrkarsdottir U, Evangelou E, Hsu YH, Duncan EL, Ntzani EE, et al. Genome-wide meta-analysis identifies 56 bone mineral density loci and reveals 14 loci associated with risk of fracture. *Nat Genet*. 2012 Apr 15;44(5):491-501.
20. Mamolini E, Cervellati C, Greco P, Carrieri A, Massari L, Crivellari I, et al. VDR, RANKL and OPG polymorphisms as possible predisposing cofactors of postmenopausal osteoporosis: explorative study in Italian population. *Gynecol Endocrinol Off J Int Soc Gynecol Endocrinol*. 2017 Dec;33(12):937-41.
21. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria Executiva. Subsecretaria de Assuntos Administrativos. Coordenação Geral de Documentação e Informação. *Estatuto do idoso*. 2 ed. Brasília: Editora MS; 2009.
22. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). *Projeção da população do Brasil e das Unidades da Federação* [Internet]. 2022 [citado 2022 Jan 28]. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/apps/populacao/projecao/index.html>
23. Almeida VC, Meira SS, Gomes FV, Souza MC de, Santos VC, Anjos KF dos. Qualidade de vida em idosos que sofreram quedas. *Rev APS* [Internet]. 2014 [citado 2022 jan 28];17(4). Disponível em: <https://periodicos.ufjf.br/index.php/aps/article/view/15319>
24. Pereira SRM, Buksman S, Perracini M, Py L, Barreto KML, Leite VMM. Quedas em idosos. *Soc Bras Geriatr e Gerontol*. 2001 jun 16;9.
25. Souza LHR, Brandão JC da S, Fernandes AKC, Cardoso BLC. Queda em idosos e fatores de risco associados. *Rev Atenção à Saúde*. 2017 dez 22;15(54):55-60.
26. Lips P, van Schoor NM. Quality of life in patients with osteoporosis. *Osteoporos Int*. 2005 May 01;16(5):447-55.

27. Oleksik A, Lips P, Dawson A, Minshall ME, Shen W, Cooper C, et al. Health-related quality of life in postmenopausal women with low bmd with or without prevalent vertebral fractures. *J Bone Miner Res.* 2000;15(7):1384-92.
28. Curtis EM, Moon RJ, Harvey NC, Cooper C. The impact of fragility fracture and approaches to osteoporosis risk assessment worldwide. *Bone.* 2017 Nov 2;104:29-38.
29. Cosman F, de Beur SJ, LeBoff MS, Lewiecki EM, Tanner B, Randall S, et al. Clinician's guide to prevention and treatment of osteoporosis. *Osteoporos Int.* 2014;25(10):2359-81.
30. Ministério da saúde (BR). Informações de Saúde (TABNET) [Internet]. DATASUS. [citado 2022 jan 28]. Disponível em: <https://datasus.saude.gov.br/informacoes-de-saude-tabnet/>
31. Almeida DO de, Araújo EMQ de, Lemaire DC. Internações por fraturas ósseas pelo SUS em idosos do município de Salvador (BA): um estudo descritivo do ano de 2015. *Rev Ciênc Méd Biol.* 2017 dez 19;16(3):288-95.
32. Pereira RMR, Figueiredo CP, Cha CC, Caparbo VF, Oliveira RM, Franco AS, et al. Associations between OPG and RANKL polymorphisms, vertebral fractures, and abdominal aortic calcification in community-dwelling older subjects: the Sao Paulo Ageing & Health Study (SPAH). *Osteoporos Int.* 2016 Nov 01;27(11):3319-29.
33. Richards JB, Rivadeneira F, Inouye M, Pastinen TM, Soranzo N, Wilson SG, et al. Bone mineral density, osteoporosis, and osteoporotic fractures: a genome-wide association study. *Lancet.* 2008 May;371:8.
34. Vidal C, Formosa R, Xuereb-Anastasi A. Functional polymorphisms within the TNFRSF11B (osteoprotegerin) gene increase the risk for low bone mineral density. *J Mol Endocrinol.* 2011 Dec;47(3):327-33.
35. Li J, Sarosi I, Yan XQ, Morony S, Capparelli C, Tan HL, et al. RANK is the intrinsic hematopoietic cell surface receptor that controls osteoclastogenesis and regulation of bone mass and calcium metabolism. *Proc Natl Acad Sci.* 2000 Feb 15;97(4):1566-71.
36. Ono T, Hayashi M, Sasaki F, Nakashima T. RANKL biology: bone metabolism, the immune system, and beyond. *Inflamm Regen.* 2020 Dec;40(1):2.
37. Tobeiha M, Moghadasian MH, Amin N, Jafarnejad S. RANKL/RANK/OPG Pathway: a mechanism involved in exercise-induced bone remodeling. *Bio Med Res Int.* 2020 Feb 19;2020:6910312.
38. Abu-Amer Y. NF- κ B signaling and bone resorption. *Osteoporos Int J Establ Result Coop Eur Found Osteoporos Natl Osteoporos Found USA.* 2013 Sept;24(9). doi:10.1007/s00198-013-2313-x.
39. Okamoto K, Nakashima T, Shinohara M, Negishi-Koga T, Komatsu N, Terashima A, et al. Osteoimmunology: the conceptual framework unifying the immune and skeletal systems. *Physiol Rev.* 2017 Oct 02;97(4):1295-349.

40. Hofbauer LC, Kühne CA, Viereck V. The OPG/RANKL/RANK system in metabolic bone diseases. *J Musculoskelet Neuronal Interact.* 2004 Sept;4(3):268-75.
41. Simonet WS, Lacey DL, Dunstan C, Kelley M, Chang MS, Luethy R, et al. Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell.* 1997 May 01;89:309-19.
42. Sigl V, Jones LP, Penninger JM. RANKL/RANK: from bone loss to the prevention of breast cancer. *Open Biol.* 2016 Nov;6(11):160230.
43. Duque G, Troen BR. Understanding the mechanisms of senile osteoporosis: new facts for a major geriatric syndrome. *J Am Geriatr Soc.* 2008;56(5):935-41.
44. Qadir A, Liang S, Wu Z, Chen Z, Hu L, Qian A. Senile Osteoporosis: The involvement of differentiation and senescence of bone marrow stromal cells. *Int J Mol Sci.* 2020 Jan 5;21(1):E349.
45. Cao J, Venton L, Sakata T, Halloran BP. Expression of RANKL and OPG correlates with age-related bone loss in male C57BL/6 mice. *J Bone Miner Res Off J Am Soc Bone Miner Res.* 2003 Feb;18(2):270-7.
46. Corrado A, Cici D, Rotondo C, Maruotti N, Cantatore FP. Molecular Basis of Bone Aging. *Int J Mol Sci.* 2020 Jan;21(10):3679.
47. Costa-Paiva L, Horovitz AP, Santos A de O, Fonsechi-Carvasan GA, Pinto-Neto AM. Prevalência de osteoporose em mulheres na pós-menopausa e associação com fatores clínicos e reprodutivos. *Rev Bras Ginecol e Obstetrícia.* 2003 ago;25:507-12.
48. Faisal-Cury A, Zacchello K. Osteoporose: prevalência e fatores de risco em mulheres de clínica privada maiores de 49 anos de idade. *Acta Ortop Bras.* 2007 jan 01;15.
49. Almeida M, Laurent MR, Dubois V, Claessens F, O'Brien CA, Bouillon R, et al. Estrogens and Androgens in Skeletal Physiology and Pathophysiology. *Physiol Rev.* 2017 Jan;97(1):135-87.
50. Chamouni A, Oury F. Reciprocal interaction between bone and gonads - ScienceDirect. *Arch Biochem Biophys.* 2014 Nov;561:147-53.
51. Manolagas SC. Birth and death of bone cells: basic regulatory mechanisms and implications for the pathogenesis and treatment of osteoporosis. *Endocr Rev.* 2000 Apr;21(2):115-37.
52. Li CW, Liang B, Shi XL, Wang H. Opg/Rankl mRNA dynamic expression in the bone tissue of ovariectomized rats with osteoporosis. *Genet Mol Res.* 2015 Ago;14(3):9215-24.
53. Pardini D. Terapia de reposição hormonal na menopausa. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2014 Mar;58:172-81.
54. Christakos S, Lieben L, Masuyama R, Carmeliet G. Vitamin D endocrine system and the intestine. *BoneKEy Rep.* 2014 Feb 05;3:496.

55. Lips P, Van Schoor NM. The effect of vitamin D on bone and osteoporosis - ScienceDirect. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2011 Ago;5(4):585-91.
56. Wei K, Yin Z, Xie Y. Roles of the kidney in the formation, remodeling and repair of bone. *J Nephrol.* 2016;29(3):349-57.
57. Van den Beld AW, Kaufman JM, Zillikens MC, Lamberts SW, Egan JM, Van der Lely AJ. The physiology of endocrine systems with ageing. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2018 Ago;6(8):647-58.
58. Veldurthy V, Wei R, Oz L, Dhawan P, Jeon YH, Christakos S. Vitamin D, calcium homeostasis and aging. *Bone Res.* 2016 Dec;4(1):16041.
59. Klein GL. Insulin and bone: Recent developments. *World J Diabetes.* 2014 Feb;5(1):14-6.
60. Starup-Linde J, Vestergaard P. Management of endocrine disease: Diabetes and osteoporosis: cause for concern? *Eur J Endocrinol.* 2015 Sept;173(3):R93-9.
61. TIAN L, YU X. Lipid metabolism disorders and bone dysfunction-interrelated and mutually regulated (Review). *Mol Med Rep.* 2015 July;12(1):783-94.
62. Wang D, Liu N, Gao Y, Li P, Tian M. Association between metabolic syndrome and osteoporotic fracture in middle-aged and elderly Chinese peoples. *Cell Biochem Biophys.* 2014 Nov;70(2):1297-303.
63. Duan P, Yang M, Wei M, Liu J, Tu P. Serum Osteoprotegerin Is a Potential Biomarker of Insulin Resistance in Chinese Postmenopausal Women with Prediabetes and Type 2 Diabetes. *Int J Endocrinol.* 2017;2017:8724869.
64. Gangoiti MV, Cortizo AM, Arnol V, Felice JI, McCarthy AD. Opposing effects of bisphosphonates and advanced glycation end-products on osteoblastic cells. *Eur J Pharmacol.* 2008 dec 14;600(1-3):140-7.
65. McCarthy AD, Etcheverry SB, Bruzzone L, Lettieri G, Barrio DA, Cortizo AM. Non-enzymatic glycosylation of a type I collagen matrix: effects on osteoblastic development and oxidative stress. *BMC Cell Biol.* 2001 Ago;2(1):16.
66. Sanguineti R, Puddu A, Mach F, Montecucco F, Viviani GL. Advanced glycation end products play adverse proinflammatory activities in osteoporosis. *Mediators Inflamm.* 2014;2014:9.
67. Bijelic R, Balaban J, Milicevic S. Correlation of the Lipid Profile, BMI and bone mineral density in postmenopausal women. *Mater Socio-Medica.* 2016 Dec;28(6):412-5.
68. Brownbill RA, Ilich JZ. Bone Lipid Profile and paradox: higher serum lipids are associated with higher bone mineral density in postmenopausal women [Internet]. *Mary Ann Liebert, NY* ; 2006 [citado 2022 jan 07]. Disponível em: <https://www.liebertpub.com/doi/abs/10.1089/jwh.2006.15.261>
69. Ghadiri-Anari A. Diabetes Research Center, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran, Mortezaei-Shoroki Z, School of Medicine, Shahid Sadoughi University of Medical

Sciences, Yazd, Iran, Modarresi M, Department of Community Medicine, School of Medicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran, et al. Association of lipid profile with bone mineral density in postmenopausal women in Yazd province. *Int J Reprod Biomed.* 2016 Sept;14(9):597-602.

70. Makovey J, Chen JS, Hayward C, Williams FMK, Sambrook PN. Association between serum cholesterol and bone mineral density. *Bone.* 2009 Feb;44(2):208-13.
71. Tang Y, Wang S, Yi Q, Xia Y, Geng B. High-density lipoprotein cholesterol is negatively correlated with bone mineral density and has potential predictive value for bone loss. *Lipids Health Dis.* 2021 Dec;20(1):75.
72. Cui R, Zhou L, Li Z, Li Q, Qi Z, Zhang J. Assessment risk of osteoporosis in Chinese people: relationship among body mass index, serum lipid profiles, blood glucose, and bone mineral density. *Clin Interv Aging.* 2016 July 4;11:887-95.
73. Zhang Q, Zhou J, Wang Q, Lu C, Xu Y, Cao H, et al. Association between bone mineral density and lipid profile in chinese women. *clin interv aging.* 2020 Sept; 15:1649-64.
74. Gkastaris K, Goulis DG, Potoupnis M, Anastasilakis AD, Kapetanios G. Obesity, osteoporosis and bone metabolism. *J Musculoskelet Neuronal Interact.* 2020 Sept;20(3):372-81.
75. Cornier MA, Després JP, Davis N, Grossniklaus DA, Klein S, Lamarche B, et al. Assessing adiposity: a scientific statement from the american heart association. *circulation.* 2011 Nov 01;124(18):1996-2019.
76. Maalouf-Manasseh Z, Remancus S, Milner E, Fenlason L, Quick T, Patsche CB, et al. Global mid-upper arm circumference cut-offs for adults: a call to action. *Public Health Nutr.* 2020 Dec;23(17):3114-5.
77. Tang AM, Chung M, Dong KR, Bahwere P, Bose K, Chakraborty R, et al. Determining a global mid-upper arm circumference cut-off to assess underweight in adults (men and non-pregnant women). *Public Health Nutr.* 2020 Dec;23(17):3104-13.
78. Kirk B, Feehan J, Lombardi G, Duque G. Muscle, Bone, and fat crosstalk: the biological role of myokines, osteokines, and adipokines. *Curr Osteoporos Rep.* 2020 Ago 01;18(4):388-400.
79. Savvidis C, Tournis S, Dede AD. Obesity and bone metabolism. *Hormones.* 2018 June;17(2):205-17.
80. Schmidt FM, Weschenfelder J, Sander C, Minkwitz J, Thormann J, Chittka T, et al. Inflammatory cytokines in general and central obesity and modulating effects of physical activity. *Eckel J, organizador. PLoS ONE.* 2015 Mar 17;10(3):e0121971.
81. Bener A, Hammoudeh M, Zirie M, Heller R. Is obesity a protective factor for osteoporosis? *APLAR J Rheumatol.* 2005 June;8:32-8.
82. Reid IR, Ames R, Evans MC, Sharpe S, Gamble G, France JT, et al. Determinants of total body and regional bone mineral density in normal postmenopausal women--a key role for fat mass. *J Clin Endocrinol Metab.* 1992 July;75(1):45-51.

83. Villareal DT, Apovian CM, Kushner RF, Klein S. Obesity in older adults: technical review and position statement of the American Society for Nutrition and NAASO, The Obesity Society. *Am J Clin Nutr.* 2005 Nov;82(5):923-34.
84. Compston JE, Watts NB, Chapurlat R, Cooper C, Boonen S, Greenspan S, et al. Obesity Is not protective against fracture in postmenopausal women: GLOW. *Am J Med.* 2011 Nov;124(11):1043-50.
85. Neri SGR, Oliveira JS, Dario AB, Lima RM, Tiedemann A. Does obesity increase the risk and severity of falls in people aged 60 years and older? A systematic review and meta-analysis of observational studies. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2020 Apr 17;75(5):952-60.
86. Trajanoska K, Rivadeneira F. The genetic architecture of osteoporosis and fracture risk. *Bone.* 2019 Sept;126:2-10.
87. Giguère Y, Rousseau F. The genetics of osteoporosis: 'complexities and difficulties'. *Clin Genet.* 2000;57(3):161-9.
88. Ralston SH, Uitterlinden AG. Genetics of Osteoporosis. *Endocr Rev.* 2010 Oct 01;31(5):629-62.
89. Styrkarsdottir U, Halldorsson BV, Gudbjartsson DF, Tang NLS, Koh JM, Xiao S Mei, et al. European Bone mineral density loci are also associated with bmd in east-asian populations. *PLoS ONE.* 2010 Oct 7;5(10):e13217.
90. Zhu X, Bai W, Zheng H. Twelve years of GWAS discoveries for osteoporosis and related traits: advances, challenges and applications. *Bone Res.* 2021 Dec;9(1):23.
91. Styrkarsdottir U, Halldorsson BV, Gretarsdottir S, Gudbjartsson DF, Walters GB, Ingvarsson T, et al. Multiple genetic loci for bone mineral density and fractures. *N Engl J Med.* 2008 May 29;358(22):2355-65.
92. Styrkarsdottir U, Halldorsson BV, Gretarsdottir S, Gudbjartsson DF, Walters GB, Ingvarsson T, et al. New sequence variants associated with bone mineral density. *Nat Genet.* 2009 Jan;41(1):15-7.
93. Arko B, Preželj J, Kocijančič A, Komel R, Marc J. Association of the osteoprotegerin gene polymorphisms with bone mineral density in postmenopausal women. *Maturitas.* 2005 July 16;51(3):270-9.
94. Langdahl BL, Carstens M, Stenkjaer L, Eriksen EF. Polymorphisms in the osteoprotegerin gene are associated with osteoporotic fractures. *J Bone Miner Res Off J Am Soc Bone Miner Res.* 2002 July;17(7):1245-55.
95. Lee YH, Woo JH, Choi SJ, Ji JD, Song GG. Associations between osteoprotegerin polymorphisms and bone mineral density: a meta-analysis. *Mol Biol Rep.* 2010 Jan;37(1):227-34.
96. Shang M, Lin L, Cui H. Association of genetic polymorphisms of RANK, RANKL and OPG

- with bone mineral density in Chinese peri- and postmenopausal women. *Clin Biochem*. 2013 Oct;46(15):1493-501.
97. Sheng X, Cai G, Gong X, Yao Z, Zhu Y. Common Variants in OPG confer risk to bone mineral density variation and osteoporosis fractures. *Sci Rep*. 2017 Dec;7(1):1739.
 98. Mencej S, Prezelj J, Kocijancic A, Ostanek B, Marc J. Association of TNFSF11 gene promoter polymorphisms with bone mineral density in postmenopausal women. *Maturitas*. 2006 Oct 20;55(3):219-26.
 99. Mencej S, Albagha OME, Preželj J, Kocjan T, Marc J. Tumour necrosis factor superfamily member 11 gene promoter polymorphisms modulate promoter activity and influence bone mineral density in postmenopausal women with osteoporosis. *J Mol Endocrinol*. 2008 June;40(6):273-9.
 100. Dastgheib SA, Gartland A, Tabei SMB, Omrani GR, Teare MD. A candidate gene association study of bone mineral density in an iranian population. *Front Endocrinol [Internet]*. 2016 [citado 2022 Jan 17];7. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fendo.2016.00141>
 101. National Center for Biotechnology Information (NCBI). dbSNP [Internet]. [citado 2022 Jan 17]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>
 102. Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica. Diretrizes brasileiras de obesidade. 3 ed. Itapevi, SP: AC Farmacêutica; 2009.
 103. Casadei K, Kiel J. Anthropometric Measurement. In: *StatPearls [Internet]*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 [citado 2022 Jan 13]. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537315/>
 104. Menezes TN de, Rocha FL, Belém PL de O, Pedraza DF. [Abdominal obesity: a critical review of the measurement techniques and cutoff points of anthropometric indicators adopted in Brazil]. *Cienc Saude Colet*. 2014 June;19(6):1741-54.
 105. Ferrucci L, Levine ME, Kuo PL, Simonsick EM. Time and the Metrics of Aging. *Circ Res*. 2018 Sept 13;123(7):740-4.
 106. Föger-Samwald U, Dovjak P, Azizi-Semrad U, Kersch-Schindl K, Pietschmann P. Osteoporosis: pathophysiology and therapeutic options. 2020 July 20;19:1017-37.
 107. Holecki M, Wiecek A. Relationship between body fat mass and bone metabolism. *Pol Arch Med Wewnętrznej*. 2010 Sept;120:361-7.
 108. Jorgetti V, dos Reis LM, Ott SM. Ethnic differences in bone and mineral metabolism in healthy people and patients with CKD. *Kidney Int*. 2014 June;85(6):1283-9.
 109. Leslie WD. Ethnic Differences in Bone Mass—Clinical Implications. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012 Dec;97(12):4329-40.
 110. Hardy R, Cooper MS. Bone loss in inflammatory disorders. *J Endocrinol*. 2009

June;201(3):309-20.

111. Albala Brevis C, Yáñez M, Devoto E, Sostin C, Zeballos L, Santos JL. Obesity as a protective factor for postmenopausal osteoporosis. *Int J Obes [Internet]*. 1996 [citado 2022 Jan 10]; Disponible em: <https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/163062>
112. Ribot C, Trémollières F, Pouillès JM. The effect of obesity on postmenopausal bone loss and the risk of osteoporosis. *Adv Nutr Res*. 1994;9:257-71.
113. Moayyeri A, Hsu YH, Karasik D, Estrada K, Xiao SM, Nielson C, et al. Genetic determinants of heel bone properties: genome-wide association meta-analysis and replication in the GEFOS/GENOMOS consortium. *Hum Mol Genet*. 2014 June ;23(11):3054-68.
114. Garg MK, Marwaha RK, Tandon N, Bhadra K, Mahalle N. Relationship of lipid parameters with bone mineral density in Indian population. *Indian J Endocrinol Metab*. 2014;18(3):325-32.
115. Fang L, Zhong S, Ma D, Li C, Hao Y, Gao Y, et al. A cross-sectional study: an assessment of low muscle mass and osteoporosis in type 2 diabetes mellitus patients with a high glycated hemoglobin level. *Ther Adv Chronic Dis*. 2021 Jan;12:20406223211026760.
116. Cutrim DMSL, Pereira FA, Paula FJA de, Foss MC. Lack of relationship between glycemic control and bone mineral density in type 2 diabetes mellitus. *Braz J Med Biol Res*. 2007 Feb;40:221-7.
117. Riggs BL, Khosla S, Melton III LJ. A unitary model for involutional osteoporosis: estrogen deficiency causes both type i and type ii osteoporosis in postmenopausal women and contributes to bone loss in aging men. *J Bone Miner Res*. 1998;13(5):763-73.
118. Shieh A, Greendale GA, Cauley JA, Karvonen-Gutierrez C, Crandall CJ, Karlamangla AS. Estradiol and follicle-stimulating hormone as predictors of onset of menopause transition-related bone loss in pre- and perimenopausal women. *J Bone Miner Res*. 2019;34(12):2246-53.
119. Dobbs MB, Buckwalter J, Saltzman C. Osteoporosis. *Iowa Orthop J*. 1999;19:43-52.
120. Stevenson JC, Lees B, Devenport M, Cust MP, Ganger KF. Determinants of bone density in normal women: risk factors for future osteoporosis? *BMJ*. 1989 Apr;298(6678):924-8.
121. Elam REW, Jackson NN, Machua W, D Carbone L. Osteoporosis: Practice essentials, background, pathophysiology. *drug essenc rheumatol medscape [Internet]*. 2021 Jan [citado 2022 Jan 10]; Disponible em: <https://emedicine.medscape.com/article/330598-overview#a4>
122. Veldhuis-Vlug AG, Woods GN, Sigurdsson S, Ewing SK, Le PT, Hue TF, et al. Serum FSH Is Associated With BMD, Bone Marrow Adiposity, and Body Composition in the AGES-Reykjavik Study of Older Adults. *J Clin Endocrinol Metab*. 2020 Dec;106(3):e1156-69.
123. Wu KC, Ewing SK, Li X, Sigurdsson S, Guðnason V, Kado DM, et al. FSH level and changes in bone mass and body composition in older women and men. *J Clin Endocrinol Metab*. 2021 Oct;106(10):2876-89.

124. Kinyamu HK, Gallagher JC, Balhorn KE, Petranick KM, Rafferty KA. Serum vitamin D metabolites and calcium absorption in normal young and elderly free-living women and in women living in nursing homes. *Am J Clin Nutr.* 1997 Mar;65(3):790-7.
125. Maeda SS, Borba VZC, Camargo MBR, Silva DMW, Borges JLC, Bandeira F, et al. Recomendações da Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia (SBEM) para o diagnóstico e tratamento da hipovitaminose D. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2014 July;58(5):411-33.
126. Serdar MA, Batu Can B, Kilercik M, Durer ZA, Aksungar FB, Serteser M, et al. Analysis of changes in parathyroid hormone and 25 (oh) vitamin d levels with respect to age, gender and season: a data mining study. *J Med Biochem.* 2017 Jan;36(1):73-83.
127. Ganesan K, Teklehaimanot S, Tran TH, Asuncion M, Norris K. Relationship of C-reactive protein and bone mineral density in community-dwelling elderly females. *J Natl Med Assoc.* 2005 Mar;97(3):329-33.
128. de Pablo P, Cooper MS, Buckley CD. Association between bone mineral density and C-reactive protein in a large population-based sample. *Arthritis Rheum.* 2012;64(8):2624-31.
129. Berglundh S, Malmgren L, Luthman H, McGuigan F, Åkesson K. C-reactive protein, bone loss, fracture, and mortality in elderly women: a longitudinal study in the OPRA cohort. *Osteoporos Int.* 2015 Feb;26(2):727-35.
130. Moreira LDF, Oliveira ML de, Lirani-Galvão AP, Marin-Mio RV, Santos RN dos, Lazaretti-Castro M. Physical exercise and osteoporosis: effects of different types of exercises on bone and physical function of postmenopausal women. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2014 July;58:514-22.
131. Kanis JA, Cooper C, Rizzoli R, Reginster JY, Scientific Advisory Board of the European Society for Clinical and Economic Aspects of Osteoporosis (ESCEO) and the Committees of Scientific Advisors and National Societies of the International Osteoporosis Foundation (IOF). European guidance for the diagnosis and management of osteoporosis in postmenopausal women. *Osteoporos Int J Establ Result Coop Eur Found Osteoporos Natl Osteoporos Found USA.* 2019 Jan;30(1):3-44.
132. Sociedade Brasileira de Cardiologia, Sociedade Brasileira de Hipertensão, Sociedade Brasileira de Nefrologia. VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão. *Arq Bras Cardiol.* 2010;95(Supll 1):1-51.
133. Rivadeneira F, Styrkársdóttir U, Estrada K, Halldórsson BV, Hsu YH, Richards JB, et al. Twenty bone-mineral-density loci identified by large-scale meta-analysis of genome-wide association studies. *Nat Genet.* 2009 Nov;41(11):1199-206.
134. Abdi S, Binbaz RA, Mohammed AK, Ansari MGA, Wani K, Amer OE, et al. Association of RANKL and OPG gene polymorphism in arab women with and without osteoporosis. *Genes.* 2021 Feb;12(2):200.
135. Boroňová I, Bernasovská J, Mačeková S, Petrejčiková E, Tomková Z, Kl'oc J, et al.

TNFRSF11B gene polymorphisms, bone mineral density, and fractures in Slovak postmenopausal women. *J Appl Genet.* 2015 Feb;56(1):57-63.

136. Barzilay JI, Davis BR, Pressel SL, Ghosh A, Puttnam R, Margolis KL, et al. The Impact of antihypertensive medications on bone mineral density and fracture risk. *Curr Cardiol Rep.* 2017 Sept;19(9):76.
137. Ghosh M, Majumdar SR. Antihypertensive medications, bone mineral density, and fractures: a review of old cardiac drugs that provides new insights into osteoporosis. *Endocrine.* 2014 Aug;46(3):397-405.
138. Hwang JK, Leu R, Butt DA. Hypertension, antihypertensive drugs, and bone mineral density. *Clin Rev Bone Miner Metab.* 2015 Sept;13(3):149-59.

APÊNDICE 1

Questionário Sociodemográfico-clínico

| CADASTRO DE INFORMAÇÕES GERAIS | | | | | | Reg. N°: |
|---|---------------|--------------------|--|-----------------|---------------------------|-----------|
| Nome: | | | | | | Data: / / |
| Data de Nascimento: | / | / | Idade: | Sexo: | 1. () M | 2. () F |
| Naturalidade: | | | | | | |
| Tel: | res: () | cel: () | outro: () | | | tel: () |
| Contato em caso de Emergência: | | | | | | |
| Entrevistador (enfermagem): | | | Entrevistador (nutrição): | | | |
| PERFIL DEMOGRÁFICO | | | | | | |
| Escolaridade: 1.() 1º grau incompleto 2.() 1º grau completo 3.() 2º grau incompleto 4.() 2º grau completo 5.() 3º grau completo 6.() 3º grau incompleto | | | | | | |
| Estado civil: 1.() solteiro 2.() casado 3.() viúvo 4.() divorciado | | | | | | |
| Plano de saúde: 1.() Sim 2.() Não | | | Nº Cartão do SUS: | | | |
| Reside com: 1.() sozinho 2.() conjuge 3.() familiares 4.() amigos | | | | | | |
| Moradia: Água Tratada: 1.() Sim 2.() Não Água Filtrada: 1.() Sim 2.() Não Destino dos Dejetos: | | | | | | |
| Renda familiar: 1.() até 1 2.() de 1 a 2 3.() de 2 a 3 4.() de 3 a 4 5.() mais de 4 | | | | | | |
| Trabalho: 1.() aposentado 2.() formal 3.() informal | | | | | | |
| Ocupação atual: | | Local de Trabalho: | | | Tempo de atividade: | |
| Ocupação anterior: | | Local de Trabalho: | | | Tempo de atividade: | |
| Cor auto-referida: 1.() Branca 2.() Preta 3.() Parda 4.() Amarela 5.() Indígena | | | | | | |
| Fototipo (pele): 1.() I 2.() II 3.() III | | | Grupo Sanguíneo: 1.A() 2.B() | | Fator Rh: 1.() + 2.() - | |
| 4.() IV 5.() V 6.() VI | | | 3.AB() 4.O() | | | |
| ATENDIMENTO DE ENFERMAGEM | | | | | | |
| HÁBITOS DE VIDA | | | | | | |
| Fumo atual | 1.() Sim | 2.() Não | Tipo: | N. cig./dia: | Tempo (anos) | |
| Fumo anterior | 1.() Sim | 2.() Não | Tipo: | N. cig./dia: | Tempo (anos) | |
| Álcool | 1.() Sim | 2.() Não | Tipo: 1.() Destilado 2.() Fermentado | Tempo (anos): | | |
| Drogas | 1.() Sim | 2.() Não | Tipo: | N. cig./dia: | Tempo (anos) | |
| Exercícios físicos | 1.() Sim | 2.() Não | Tipo: | Frequência/sem: | Tempo (anos): | |
| Protetor Solar | 1.() Sim | 2.() Não | Frequência/sem: | | Tempo (anos) | |
| Sono | 1.() Regular | 2.() Irregular | Horas/dia: | | | |
| ANTECEDENTES MÉDICOS | | | | | | |
| Alterações do sist. reprodutor e osteomuscular | | | | | | |
| Menopausa | 1.() Sim | 2.() Não | Qual idade? | | | |
| Gestações | 1.() Sim | 2.() Não | Quantidade: | Tipo de parto: | | |
| Reposição hormonal | 1.() Sim | 2.() Não | Qual? | | | |
| Reposição de vit D | 1.() Sim | 2.() Não | | | | |
| Reposição de Ca | 1.() Sim | 2.() Não | Tipo: | | | |
| Osteoporose | 1.() Sim | 2.() Não | Em Tratamento? | 1.() Sim | 2.() Não | |
| Fraturas pós menopáusicas | 1.() Sim | 2.() Não | Local da fratura: 1.() fêmur 2.() vértebra 3.() punho 4.() outro | | | |
| - causa da fratura | 1.() queda | 2.() outro: | Quantidade de fraturas: | | | |
| Fraturas pré-menopáusicas | 1.() Sim | 2.() Não | Local da fratura: 1.() fêmur 2.() vértebra 3.() punho 4.() outro | | | |
| Dificuldade para andar | 1.() Sim | 2.() Não | | | | |
| Dor nas articulações | 1.() Sim | 2.() Não | | | | |
| Artrose | 1.() Sim | 2.() Não | | | | |
| Fraqueza muscular | 1.() Sim | 2.() Não | | | | |
| Alterações Endócrinas | | | | | | |
| Diabete Tipo I | 1.() Sim | 2.() Não | Em tratamento? | 1.() Sim | 2.() Não | Anos: |
| Diabete Tipo II | 1.() Sim | 2.() Não | Em tratamento? | 1.() Sim | 2.() Não | Anos: |
| Hipertireoidismo | 1.() Sim | 2.() Não | Em tratamento? | 1.() Sim | 2.() Não | Anos: |
| Hipotiroidismo/tireoidectomia | 1.() Sim | 2.() Não | Em tratamento? | 1.() Sim | 2.() Não | Anos: |
| Síndrome de Cushing | 1.() Sim | 2.() Não | Em tratamento? | 1.() Sim | 2.() Não | Anos: |
| Outras: | 1.() Sim | 2.() Não | Em tratamento? | 1.() Sim | 2.() Não | Anos: |
| Alterações CV e sanguíneas? 1.() Sim 2.() Não 3.() Não sei. | | | | | | |
| Hipertensão arterial | 1.() Sim | 2.() Não | Compensada? | 1.() Sim | 2.() Não | Anos: |
| Hipotensão arterial | 1.() Sim | 2.() Não | Compensada? | 1.() Sim | 2.() Não | Anos: |
| Válvulas Artificiais | 1.() Sim | 2.() Não | Anos: | Tipo: | | |
| Problemas Valvares | 1.() Sim | 2.() Não | Anos: | Tipo: | | |
| Endocardite Bact. | 1.() Sim | 2.() Não | Anos: | | | |
| Ponte Safena | 1.() Sim | 2.() Não | Anos: | | | |
| Infarto do Miocárdio | 1.() Sim | 2.() Não | Anos: | | | |
| Marcapasso | 1.() Sim | 2.() Não | Anos: | | | |
| Angina | 1.() Sim | 2.() Não | Em tratamento? | 1.() Sim | 2.() Não | Anos: |
| Dist. Coagulação | 1.() Sim | 2.() Não | Em tratamento? | 1.() Sim | 2.() Não | Anos: |
| Arteriosclerose | 1.() Sim | 2.() Não | Em tratamento? | 1.() Sim | 2.() Não | Anos: |

| | | | | | | |
|---|-------------------|-------------------------------------|------------------------|----------------------|------------------------|---------------------|
| Anemia falciforme | 1. () Sim | 2. () Não | | | | |
| Alterações Neurológicas? | 1. () Sim | 2. () Não | 3. () Não sei. | | | |
| Alzheimer | 1. () Sim | 2. () Não | Em tratamento? | 1. () Sim | 2. () Não | Anos: |
| Epilepsia | 1. () Sim | 2. () Não | Em tratamento? | 1. () Sim | 2. () Não | Anos: |
| Neoplasia e intervenções? | 1. () Sim | 2. () Não | 3. () Não sei. | | | |
| Leucemia | 1. () Sim | 2. () Não | Em tratamento? | 1. () Sim | 2. () Não | Anos: |
| Outras neop.: | 1. () Sim | 2. () Não | Em tratamento? | 1. () Sim | 2. () Não | Anos: |
| Radioterapia | 1. () Sim | 2. () Não | Em tratamento? | 1. () Sim | 2. () Não | Anos: |
| Quimioterapia | 1. () Sim | 2. () Não | Em tratamento? | 1. () Sim | 2. () Não | Anos: |
| Transplantado | 1. () Sim | 2. () Não | Órgão: | | | Anos: |
| Transfusão sanguínea | 1. () Sim | 2. () Não | Motivo: | | | Anos: |
| Alterações Reumatológicas? | 1. () Sim | 2. () Não | 3. () Não sei. | | | |
| Qual? | | | | | | |
| Lupus eritematoso | 1. () Sim | 2. () Não | Em tratamento? | 1. () Sim | 2. () Não | Anos: |
| Artrite Reumatóide | 1. () Sim | 2. () Não | Em tratamento? | 1. () Sim | 2. () Não | Anos: |
| Febre Reumática | 1. () Sim | 2. () Não | Em tratamento? | 1. () Sim | 2. () Não | Anos: |
| Alterações Gastrointestinais? | 1. () Sim | 2. () Não | 3. () Não sei. | | | |
| Qual? | | | | | | |
| Doença de Crohn | 1. () Sim | 2. () Não | Em tratamento? | 1. () Sim | 2. () Não | Anos: |
| Doença Celíaca | 1. () Sim | 2. () Não | Em tratamento? | 1. () Sim | 2. () Não | Anos: |
| Alergia alimentar | 1. () Sim | 2. () Não | Em tratamento? | 1. () Sim | 2. () Não | Anos: |
| Colite ulcerativa | 1. () Sim | 2. () Não | Em tratamento? | 1. () Sim | 2. () Não | Anos: |
| Xerostomia | 1. () Sim | 2. () Não | Em tratamento? | 1. () Sim | 2. () Não | Anos: |
| Infecções? | 1. () Sim | 2. () Não | 3. () Não sei. | | | |
| Hepatite | 1. () Sim | 2. () Não | Em tratamento? | 1. () Sim | 2. () Não | Anos: |
| Portador HIV | 1. () Sim | 2. () Não | Em tratamento? | 1. () Sim | 2. () Não | Anos: |
| Portador HTLV | 1. () Sim | 2. () Não | Em tratamento? | 1. () Sim | 2. () Não | Anos: |
| Tuberculose | 1. () Sim | 2. () Não | Em tratamento? | 1. () Sim | 2. () Não | Anos: |
| Herpes | 1. () Sim | 2. () Não | Em tratamento? | 1. () Sim | 2. () Não | Anos: |
| Dengue | 1. () Sim | 2. () Não | Em tratamento? | 1. () Sim | 2. () Não | Anos: |
| Gripe | 1. () Sim | 2. () Não | Última vez (meses): | | Vezes/ano: | |
| Outros/Observações: | | | | | | |
| MEDICAMENTOS EM USO OU QUE JÁ FORAM UTILIZADOS POR PELO MENOS UM MÊS/ANO | | | | | | |
| Já fez uso destes medicamentos pelo menos um mês/ano. Se sim qual a idade de início e qual a duração do uso? | | | | | | |
| Fenilbutazona | 1. () Sim | 2. () Não | Idade (anos): | Duração (anos): | Dose: | |
| Corticóide | 1. () Sim | 2. () Não | Idade (anos): | Duração (anos): | Dose: | |
| Indometacina | 1. () Sim | 2. () Não | Idade (anos): | Duração (anos): | Dose: | |
| Cloranfenicol | 1. () Sim | 2. () Não | Idade (anos): | Duração (anos): | Dose: | |
| Imunossupressor | 1. () Sim | 2. () Não | Idade (anos): | Duração (anos): | Dose: | |
| Amoxicilina | 1. () Sim | 2. () Não | Idade (anos): | Duração (anos): | Dose: | |
| Metronidazol | 1. () Sim | 2. () Não | Idade (anos): | Duração (anos): | Dose: | |
| Hormônios | 1. () Sim | 2. () Não | Idade (anos): | Duração (anos): | Dose: | |
| - Qual? | | | | | | |
| Antibióticos | 1. () Sim | 2. () Não | Idade (anos): | Duração (anos): | Dose: | |
| Estatinas: | 1. () Sim | 2. () Não | Idade (anos): | Duração (anos): | Dose: | |
| Outros medicamentos em uso: | | | | | | |
| VACINAÇÃO | | | | | | |
| Possui carteira de vacinação? | 1. () Sim | 2. () Não | | | | |
| <i>(Calendário de Vacinação do Idoso SBlm)</i> | | | | | | |
| Influenza: | / / | Anual | | | | |
| VPC13 e VPP23: | / / | VPC13 1ª dose | / / | VPP23 2 meses depois | / / | VPP23 5 anos depois |
| dT: | / / | 1a dose | / / | 2a dose | / / | 3a dose |
| dTpa: | / / | 1 dose após esquema básico completo | | / / | reforço a cada 10 anos | |
| Hepatite B: | / / | 1a dose | / / | 2a dose | / / | 3a dose / / reforço |

| ATENDIMENTO DE NUTRIÇÃO | | | | | |
|---|---------------------|-----------------|------------------------------|---------------------|------------|
| DADOS CLÍNICOS | | | | | |
| EXAME CLÍNICO NUTRICIONAL | | | | | |
| Itens | 1ª Consulta | 1 Mês | 2 Meses | 3 Meses | |
| Dentição | | | | | |
| Língua | | | | | |
| Abdomen | | | | | |
| Sistema Urinário (Cor da Urina) | | | | | |
| Acantose Nigricans (Sim, Não, Local?) | | | | | |
| | 1ª Consulta | 1 Mês | 2 Meses | 3 Meses | |
| Peso (kg) | | | | | |
| Altura | | | | | |
| IMC (kg/m²) | | | | | |
| Circunferência da cintura (cm) | | | | | |
| Circunferência abdominal (cm) | | | | | |
| Circunferência do quadril (cm) | | | | | |
| Circunferência do Braço (cm) | | | | | |
| Razão cintura/estatura | | | | | |
| Pressão arterial (mmHg) | | | | | |
| Apetite Atual: | 1. () Aumentad | 2. () Habitual | 3. () Diminuído | Horário: | |
| Alergia Alimentar | 1. () Sim | 2. () Não | Alimentos | | |
| Intolerância Alimen | 1. () Sim | 2. () Não | Alimentos | | |
| Suplementos Alimen | 1. () Sim | 2. () Não | Quais | | |
| Fitoterápicos | 1. () Sim | 2. () Não | Quais | | |
| Probióticos | 1. () Sim | 2. () Não | Quais | | |
| CARACTERÍSTICAS DO SISTEMA GASTROINTESTINAL | | | | | |
| Disfagia: | 1. () Sim | 2. () Não | Dor Abdominal: | 1. () Sim | 2. () Não |
| Epigastralgia: | 1. () Sim | 2. () Não | Local: | | |
| Odinofagia: | 1. () Sim | 2. () Não | Características: | | |
| Dispepsia: | 1. () Sim | 2. () Não | | | |
| Regurgitação | 1. () Sim | 2. () Não | Dor na defecção | 1. () Sim | 2. () Não |
| Pirose | 1. () Sim | 2. () Não | Sangue na defecção: | 1. () Sim | 2. () Não |
| Náuseas | 1. () Sim | 2. () Não | Ritmo Intestinal (freq/sema | | |
| Vômitos | 1. () Sim | 2. () Não | Escala Fecal de Bristol – T | | |
| Características | | | Cor: | | |
| FREQUÊNCIA ALIMENTAR | | | | | |
| ALIMENTO | Frequência / Semana | | ALIMENTO | Frequência / Semana | |
| Carnes | | | Bebidas | | |
| Bovina | | | Água | | |
| Aves | | | Sucos | | |
| Peixe | | | Infusões | | |
| Vísceras | | | Isotônicas | | |
| Leite / Derivados | | | Gaseificadas | | |
| Ovos | | | Alcoólicas | | |
| Leguminosas | | | Doces | | |
| Cereais | | | Gorduras | | |
| Massas | | | Óleo | | |
| Vegetais | | | Margarina | | |
| Folhosos | | | Manteiga | | |
| Legumes | | | Toucinho | | |
| Frutas | | | Enlatados/Embutidos | | |
| Doces | | | Salgadinhos/Biscoitos | | |
| Cítricas | | | ("Lanches") | | |

| RECORDATÓRIO 24 HORAS | | | | | | |
|-----------------------|------------|--|--|------------------|--|-------------|
| Refeição | Dia típico | | | Finais de Semana | | Observações |
| Desjejum | | | | | | |
| Hora | | | | | | |
| | | | | | | |
| Local | | | | | | |
| | | | | | | |
| Colação | | | | | | |
| Hora | | | | | | |
| | | | | | | |
| Local | | | | | | |
| | | | | | | |
| Almoço | | | | | | |
| Hora | | | | | | |
| | | | | | | |
| Local | | | | | | |
| | | | | | | |
| Lanche | | | | | | |
| Hora | | | | | | |
| | | | | | | |
| Local | | | | | | |
| | | | | | | |
| Jantar | | | | | | |
| Hora | | | | | | |
| | | | | | | |
| Local | | | | | | |
| | | | | | | |
| Ceia | | | | | | |
| Hora | | | | | | |
| | | | | | | |
| Local | | | | | | |
| | | | | | | |



APÊNDICE 2

UNIVERSIDADE DO ESTADO DA BAHIA DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS DA VIDA, CAMPUS I

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
ESTA PESQUISA SEGUIRÁ OS CRITÉRIOS DA ÉTICA EM PESQUISA COM SERES
HUMANOS CONFORME RESOLUÇÃO NO 466/12 DO CONSELHO NACIONAL DE SAÚDE.

I – DADOS DE IDENTIFICAÇÃO

Nome do Participante: _____
Documento de Identidade nº: _____ Sexo: F () M ()
Data de Nascimento: ____/____/____ CPF: _____
Endereço: _____ Complemento: _____
Bairro: _____ Cidade: _____ CEP: _____
Telefones: (____) _____ / (____) _____
E-mail: _____

II – DADOS DA PESQUISA CIENTÍFICA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA:.. “Caracterização da densidade mineral óssea e sua associação a polimorfismos genéticos de IL-17F, IL-6 e OPG, parâmetros antropométricos, nutricionais e os perfis glicídicos, lipídicos e hormonais em uma amostra da população de idosos de Salvador, Bahia”.
2. PESQUISADOR(A) RESPONSÁVEL: Denise Carneiro Lemaire
Cargo/Função: Professor Titular com dedicação exclusiva

III - EXPLICAÇÕES DO PESQUISADOR AO PARTICIPANTE SOBRE A PESQUISA:

O senhor(a) está sendo convidado(a) para participar da pesquisa: “Caracterização da densidade mineral óssea e sua associação a polimorfismos genéticos de IL-17F, IL-6 e OPG, parâmetros antropométricos, nutricionais e os perfis glicídicos, lipídicos e hormonais em uma amostra da população de idosos de Salvador, Bahia”, de responsabilidade da pesquisadora Denise Carneiro Lemaire, docente da Universidade do Estado da Bahia que tem como objetivo de Caracterizar a DMO e Investigar possíveis associações entre a perda de DMO com polimorfismos genéticos dos genes TNFRSF11B 163A>G (rs3102735), TNFRSF11B 1181G>C (rs2073618), IL17F 7488T>C (rs763780) e IL6 -634C>G (rs1800796), parâmetros antropométricos, nutricionais e os perfis glicídicos, lipídicos e hormonais em uma população de idosos da UATI-UNEB, campus I. A realização desta pesquisa trará ou poderá trazer benefícios para a o sistema de saúde, visto que o planejamento e execução de estudo de associação permitem a identificação de potenciais fatores de risco e de proteção às doenças, como a osteoporose. A caracterização da sua situação vacinal também será investigada, no intuito de realizarmos o levantamento vacinal de uma população de idosos de Salvador, contribuindo assim com a rede do SUS com informações referentes aos serviços da atenção básica. Caso aceite, o Senhor(a) será convidado(a) a fazer um atendimento com profissional de saúde para a realização de uma entrevista para i) responder a um questionário sociodemográfico, ii) para realizar o recordatório alimentar de um dia típico e atípico e iii) para a realização de um exame físico onde serão avaliadas a função cardiovascular (pressão arterial e eletrocardiograma) e os parâmetros antropométricos com mensuração do peso, altura, circunferência da cintura e do quadril) pelo (a) estudante.....do curso de graduação/pós-graduação em..... Além disto, serão entregues neste atendimento solicitação para realização de exames laboratoriais para dosagem de biomoléculas, como hormônios e anticorpos anti-HBS e anti-HBC, exame de fezes, bem como o laudo para autorização de procedimentos de alta complexidade (APAC) para a realização de densitometria óssea, os quais poderão ser feitos gratuitamente pelo SUS em clínicas conveniadas. Devido a coleta de sangue para os exames laboratoriais, o(a) senhor(a) poderá sentir dor ou incômodo no local da punção venosa. Após a

aquisição do resultado dos exames, o(a) Sr(a) terá direito a um atendimento para revisão por profissional de saúde que fará a coleta dos dados dos exames e as devidas orientações e encaminhamentos caso o Sr(a). necessite de cuidados de saúde. Caso esteja com situação vacinal incompleta ou ausente para a hepatite B, o(a) Sr(a). poderá ser encaminhado(a) para uma unidade básica de saúde mais conveniente para buscar imunização. Após completar o esquema vacinal, terá direito a uma nova consulta para receber nova guia de solicitação de exames de sangue para avaliação de soroconversão e dosagem dos níveis séricos de vitamina D. Sua participação é voluntária e não haverá nenhum gasto ou remuneração resultante dela. Garantimos que sua identidade será tratada com sigilo e portanto o Sr(a) não será identificado(a), e que sua amostra de sangue será descartada após término deste projeto de pesquisa. Caso queira o(a) Sr(a) poderá, a qualquer momento, desistir de participar e retirar sua autorização. Sua recusa não trará nenhum prejuízo em sua relação com a pesquisadora ou com a instituição. Quaisquer dúvidas que o(a) Sr(a) apresentar serão esclarecidas pela pesquisadora e, caso queira, poderá entrar em contato também com o Comitê de Ética da Universidade do Estado da Bahia. Esclareço ainda que de acordo com as leis brasileira o(a) Sr(a) tem direito a indenização caso seja prejudicado(a) por esta pesquisa. O(a) senhor (a) receberá uma cópia deste termo onde consta o contato dos pesquisadores, que poderão tirar suas dúvidas sobre o projeto e sua participação, agora ou a qualquer momento.

IV - INFORMAÇÕES DE NOMES, ENDEREÇOS E TELEFONES DOS RESPONSÁVEIS PELO ACOMPANHAMENTO DA PESQUISA, PARA CONTATO EM CASO DE DÚVIDAS

PESQUISADOR(A) RESPONSÁVEL: Denise Carneiro Lemaire

Telefone: (71) 31175352

Endereço: Rua Silveira Martins, no 2555, Cabula. e-mail:dlemaire@uneb.br

Comitê de Ética em Pesquisa (CEP/UNEB): Rua Silveira Martins, 2555, Cabula. Salvador-BA. CEP:41.150-000. Tel.: 71 3117-2445 e-mail: cepuneb@uneb.br

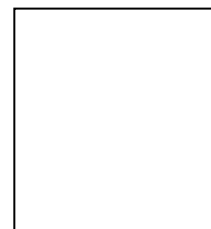
Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – CONEP: SEPN 510 NORTE, BLOCO A 1o SUBSOLO, Edifício Ex-INAN - Unidade II - Ministério da Saúde CEP: 70750-521 - Brasília-DF.

V. CONSENTIMENTO PÓS-ESCLARECIDO

Declaro que, após ter sido devidamente esclarecido pelo pesquisador(a) sobre os objetivos benéficos da pesquisa e riscos de minha participação na pesquisa “Caracterização da densidade mineral óssea e sua associação a polimorfismos genéticos de IL-17F, IL-6 e OPG, parâmetros antropométricos, nutricionais e os perfis glicídicos, lipídicos e hormonais em uma amostra da população de idosos de Salvador, Bahia”, e ter entendido o que me foi explicado, concordo em participar sob livre e espontânea vontade, como voluntário consinto que os resultados obtidos sejam apresentados e publicados em eventos e artigos científicos desde que a minha identificação não seja realizada e assinarei este documento em duas vias sendo uma destinada ao pesquisador e outra a via que a mim.

Salvador, _____ de _____ de _____.

Assinatura do participante da pesquisa



Assinatura do pesquisador discente
(orientando)

Assinatura do professor responsável
(orientador)

Pesquisa submetida ao Comitê de ética em pesquisa com seres Humanos da Universidade do estado da Bahia, aprovado sob número de parecer de número 2.181.708 pela Universidade do Estado da Bahia, sob o CAAE32401614.6.0000.0057. Consulta disponível em: <<http://aplicacao.saude.gov.br/plataformabrasil>>.



Instituto de Ciências da Saúde
Programa de Pós-Graduação
Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas
Avenida Reitor Miguel Calmon s/n - Vale do Canela. CEP: 40110-100
Salvador, Bahia, Brasil

<http://www.ppgorgsistem.ics.ufba.br>