Maria Guadalupe Barbosa Pippa

**Densidade mineral óssea alta em mulheres na
pós menopausa: fatores determinantes**

**Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do título de
doutor em Ciências**

**Área de concentração: Distúrbios Genéticos de
Desenvolvimento e Metabolismo**

Orientador: Prof. Dr. Cristiano Augusto de Freitas Zerbini

**São Paulo
2009**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Pippa, Maria Guadalupe Barbosa

Densidade mineral óssea alta em mulheres na pós menopausa : fatores determinantes
/ Maria Guadalupe Barbosa Pippa. -- São Paulo, 2009.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Departamento de Clínica Médica.

Área de concentração: Distúrbios Genéticos de Desenvolvimento e Metabolismo.

Orientador: Cristiano Augusto de Freitas Zerbini.

Descritores: 1.Densidade óssea 2.Pós-menopausa 3.Leptina 4.Densidade mineral
alta

USP/FM/SBD-287/09

Dedicatória

*A todos, que como eu,
"possuem a estranha mania de ter fé na vida"*

Agradecimentos

Ao meu orientador, Prof. Dr. Cristiano Augusto de Freitas Zerbini, pelo apoio, confiança e ensinamentos, ao longo de tantos anos.

Aos amigos do Serviço de Reumatologia do Hospital Heliópolis, pelo carinho e pela compreensão durante este período, às vezes turbulento.

Meu afetuoso muito obrigada!

Esta tese está de acordo com:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors*
(Vancouver)

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação. Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Júlia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. São Paulo: Serviço de Biblioteca e Documentação; 2004.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

Sumário

RESUMO	í
ABSTRACT	ü
1. INTRODUÇÃO	1
1.1 Remodelação Óssea	3
1.2 Biologia Celular na Remodelação Óssea.....	3
1.3 Conceito e Fisiologia da Osteoporose	4
1.4 Etiopatogenia da Osteoporose	5
1.4.1 Menopausa.....	5
1.4.2 Envelhecimento	6
2. FATORES DETERMINANTES DA DENSIDADE MINERAL ÓSSEA	7
2.1. Composição Corpórea.....	7
2.2. Hormônios	7
2.2.1. Leptina.....	7
2.2.2. IGF1 e GH.....	8
2.3. Determinantes Genéticos da Massa Óssea.....	10
2.3.1. Genes da família WNT	11
2.3.2. Co-receptores LRP5 e LRP6	11
2.3.3. Genes Dickkopf e Esclerostina	13
2.3.4. Frizzled.....	13
2.3.5. Alox 15	13
3. DENSIDADE MINERAL ÓSSEA ALTA	15
3.1. Diagnóstico Densitométrico	15
3.1.2. Como Identificar a DMO Alta no Exame de Densitometria?.....	16
3.1.3. Reconhecimento de DMO Supra Normal.....	18
4. JUSTIFICATIVA DO ESTUDO	20
5. OBJETIVOS	21
5.1. Geral	21
5.2. Específicos	21
6. CASUÍSTICA E MÉTODOS	22
6.1. Delineamento do Estudo	22
6.2. População do Estudo.....	22
6.2.1. Critérios para Densidade Mineral Alta.....	23
6.2.2. Grupo Controle	23
6.3. Critérios de Inclusão	24
6.3.1. Voluntárias com DMO Alta.....	24
6.3.2. Voluntárias Controle	24
6.4. Critérios de Exclusão.....	25
6.5. Metodologia.....	25
6.5.1. Contato do PAM Heliópolis com as Voluntárias da Pesquisa.....	25
6.5.2. Classificação das Variáveis Qualitativas.....	26
6.5.3. Medidas Antropométricas	28
6.5.4. Densitometria Óssea	28
6.5.5. Exames Complementares.....	29
a) Dosagem Sérica de Leptina.....	29

b) Marcadores do <i>Turnover</i> Ósseo	29
c) Dosagem Sérica de FSH	30
d) Dosagem Sérica de Estradiol.....	30
e) Dosagem Sérica de IGF1	30
f) Dosagem Sérica de Cálcio.....	30
g) Dosagem Sérica de Vitamina B12	31
6.5.6 Variáveis do Estudo.....	31
6.5.6.1. Variável Dependente	31
6.5.6.2. Variáveis Independentes	31
6.6 Análise estatística	32
6.6.1. Testes Aplicados	32
6.7. Questões Éticas	34
7. RESULTADOS	35
7.1 Mulheres com DMOAL	35
7.2. Comparação entre os Dois Grupos: DMOAL x GC	39
8. DISCUSSÃO	48
8.1. Mulheres com DMOAL	48
8.2. Comparação entre os Dois Grupos.....	50
9. RESUMO DOS RESULTADOS	57
9.1. Fatores Positivos Possivelmente Determinantes de DMOAL.....	57
9.2. Diferenças Observadas entre o Grupo DMOAL e GC.....	57
10. COMENTÁRIOS E CONCLUSÕES	58
REFERÊNCIAS	59
ANEXOS	71
ANEXO I. Questionário geral	72
ANEXO II. Questionário de atividade física habitual (Baecke)	75
ANEXO III. Cálculo do questionário de atividade física	77
ANEXO IV. Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa	78
ANEXO V. Termo de consentimento livre e esclarecido.....	79

RESUMO

Pippa MGB. *Densidade mineral óssea alta em mulheres pós-menopausa: Fatores determinantes* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2009.

O conceito de densidade mineral óssea alta (DMOAL) é controverso, e valores diferentes de DMO têm sido considerados como “limite” para essa classificação. Considerando que DMOAL pode estar presente em indivíduos normais e anormais, é importante analisar os possíveis fatores clínicos determinantes desta condição. Estudamos 337 mulheres pós-menopausa (180 com DMOAL e 157 grupo controle). A tecnologia DXA foi usada para medir a DMO e os compartimentos da composição corpórea. O grupo DMOAL tinha que apresentar DMO areal com valores absolutos $\geq 1,228 \text{ g/cm}^2$ (L1-L4) e $\geq 1,006 \text{ g/cm}^2$ (colo do fêmur). Além disso, o T-score deveria ser $\geq 0,1 \text{ SD}$ (OMS) e o percentil do índice T $> 100\%$ em todos os sítios (L1, L2, L3, L4, L1-L4, DP colo do fêmur (CF) *wards*, trocanter e fêmur total (FT)). As pacientes que não apresentavam estes critérios foram incluídas no grupo controle (GC). Todas as voluntárias realizaram testes laboratoriais e responderam questionário de Baecke para avaliar atividade física. A correlação entre as variáveis foram estimadas (coeficiente de correlação de Pearson, Deviance and Hosmer–Lemeshow). Modelos de regressão múltipla foram usados para identificar os preditores independentes determinantes de DMOAL. Resultados: A média de idade no grupo DMOAL foi de 60 anos (DP = 8,3); peso 77,0 kg (DP = 11,7); altura 1,57 cm (DP = 0,05) e IMC 31,1 kg/m² (DP = 4,9). O não uso prévio de terapia de reposição hormonal (TRH) mostrou correlação negativa com DMOAL no colo do fêmur ($r^2 = -0,011$) e o estado eutireoideo mostrou um possível efeito protetor e mantenedor nos valores de DMO. Pacientes com DMOAL em fêmur total não apresentavam antecedentes de fratura prévia por fragilidade ($r^2 = 0,008$). Valores normais de VB12 mostraram correlação positiva com DMOAL ($r^2 = 0,098$). O mesmo aconteceu para valores normais ou elevados de leptina. Pacientes com baixa atividade física apresentaram correlação inversa com DMOAL. Estes resultados sugerem que o uso prévio de TRH, estado eutireoideo, uso atual de sinvastatina, e altos níveis de leptina podem ser importantes para a manutenção de DMOAL. Interessantemente, quando utilizamos o *cutoff* $>1 \text{ DP}$ para determinar as mulheres com DMOAL nos sítios já referidos, usando este mesmo banco de dados, observamos que para cada aumento de 1 kg de massa magra, a chance de apresentar DMOAL aumentou em 15%. Além disso, o hábito de não fumar, aumentou em 4,21 vezes a chance de apresentar DMOAL. Finalmente, observamos que a massa magra total manteve sua influência positiva na DMO, mesmo quando usamos um valor de corte (*cutoff*) $\geq 1,5 \text{ DP}$ no colo do fêmur e fêmur total, como critério de seleção de DMOAL.

Descritores: Densidade óssea; Pós-menopausa; Leptina; Densidade mineral óssea alta.

SUMMARY

Pippa MGB. *High bone mineral density in postmenopausal women: determinant factors [thesis]*. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2009.

The concept of high bone mineral density (HBMD) is controversial and different values of BMD have been considered as “threshold” for this classification. Whereas HBMD may be present in normal and abnormal, it is important to analyze the possible factors determining this clinical condition. We studied 337 postmenopausal women (180 with HBMD and 157 control group). DXA technology was used to measure BMD and body composition compartments. The group HBMD had to present areal BMD with absolute values $\geq 1.228 \text{ g/cm}^2$ (L1-L4) and $\geq 1.006 \text{ g/cm}^2$ (femoral neck). Moreover, the T-score should be $\geq 0,1 \text{ SD}$ (WHO) and the percentile of the index T $>100\%$ at all sites (L1, L2, L3, L4, L1-L4, Femoral neck, wards, trochanter and Total femur). The patients without these criteria were included in the control group (CG). All volunteers performed laboratory tests and answered the Baecke Questionnaire to assess physical activity. The correlation between variables were estimated (correlation coefficient of Pearson, Deviance and Hosmer-Lemeshow test). Multiple regression models were used to identify independent predictors determinants HBMD. Results: The mean age in group HBMD was 60 years (SD = 8.3), weight 77.0 kg (SD = 11.7), height 1.57 cm (SD = 0.05) and BMI $31,1 \text{ kg/m}^2$ (SD = 4.9). Non prior using of hormone replacement therapy (HRT) showed negative correlation with HBMD in femoral neck ($r^2 = - 0.011$) and euthyroid state seemed to favor and to maintain HBMD on this site. Patients with negative history of previous fracture fragility had HBMD in total femur ($r^2 = 0.008$). Normal values of vitamin B12 showed positive correlation with HBMD ($r^2 = 0.098$). The same occurred for normal or high levels of leptin. Patients with low physical activity correlated inversely with HBMD. Our results suggest that previous use of HRT, euthyroid state, current use of simvastatin, and high levels of leptin may be important to maintaining HBMD. Interestingly, when we used the cutoff $>1 \text{ SD}$ to determine HBMD women on the sites already mentioned, using this same database, we found that for each increase of 1 kg of lean body mass, the chance of presenting HBMD increased by 15%. Yet, the habit of not smoking, increased by 4.21 times the chance of having HBMD. Finally, we observed that the total lean mass maintained its positive influence on BMD, even when using a cutoff value $\geq 1.5 \text{ SD}$ in femoral neck and total femur as a criterion of selection for HBMD.

Key words: Bone density; Post menopause; Leptin; High bone mineral density.

1. INTRODUÇÃO

Entre as várias alterações associadas à menopausa e à senectude, a osteoporose tem sido objeto de várias pesquisas. Isto ocorre em função da alta morbi-mortalidade associada às fraturas ósseas, particularmente as fraturas de quadril¹⁻³. Este tipo de fraturas aumenta de forma significativa o número de hospitalizações, com conseqüente aumento dos gastos médico hospitalares.

Dados recentes fornecidos pelo Ministério da Saúde descrevem que no ano de 2004 foram gastos com fraturas de quadril secundária à osteoporose, a quantia de 28 milhões de reais⁴. Em 2006, Danowski⁵ descreveu que a incidência anual de fraturas no Brasil é de 1 milhão de fraturas. Destas, 250 mil são de quadril e metade ocorre em pacientes com 75 anos ou mais. No mesmo ano, Pinheiro et al.⁶ por meio de questionário estruturado aplicado a 2.320 indivíduos acima de 40 anos e moradores de 150 municípios brasileiros, relataram história de fratura por osteoporose em 25% da amostra estudada. Conhecida como a doença metabólica mais prevalente nos países desenvolvidos⁷, a ocorrência da osteoporose depende da combinação da quantidade de massa óssea obtida na idade adulta, da intensidade da sua perda e da desorganização micro estrutural do osso. Portanto, a obtenção de um ótimo pico de massa óssea no início da vida reduz o impacto da perda óssea associada ao envelhecimento.

O exame de densitometria óssea permite a avaliação da quantidade de massa óssea e da composição corpórea. A tecnologia DXA (*dual absorpsiometry X-ray*) utilizada neste método, permite a quantificação mais precisa e acurada da massa óssea, tornando-se um dos instrumentos mais importantes na avaliação da osteoporose⁸. A partir de 1998, a interpretação dos resultados dos exames de densitometria óssea passou a ser uma importante ferramenta no diagnóstico de

osteoporose. Foi nesta década, que a Organização Mundial de Saúde (OMS), definiu os seguintes critérios diagnósticos para osteoporose⁹:

- **Normal:** valor de DMO menor ou igual a 1 desvio padrão abaixo do esperado para o adulto jovem
- **Osteopenia** (baixa massa óssea): valor de DMO entre 1 e 2,5 desvios padrão abaixo da média do adulto jovem
- **Osteoporose:** valor de DMO superior a 2,5 desvios padrão abaixo da média do adulto jovem
- **Osteoporose estabelecida:** Valor da DMO superior a 2,5 desvios padrão abaixo da média do adulto jovem e pelos menos uma fratura por fragilidade.

Desde então, a maioria dos estudos tem concentrado suas pesquisas na avaliação de pacientes com baixa DMO, osteopenia e/ou osteoporose. Possivelmente pelo mesmo motivo, aqueles pacientes que apresentam um T-score de DMO correspondente a ≥ -1 desvio padrão, são classificados de forma arbitrária como normais. Até a presente data, as Sociedades Brasileira de Densitometria Clínica (SBDens), *International Society Of Clinical Densitometry* (ISCD) e *National Osteoporosis Foundation* (NOF), são concordantes com tal recomendação¹⁰⁻¹². A não disponibilização de um valor T-score de DMO limítrofe, que nos permita classificar os pacientes com valores de DMO acima do normal segundo os critérios da OMS, parece justificar o posicionamento das referidas sociedades. Da mesma forma, o conceito de DMO alta é motivo de controvérsias, permitindo que diferentes valores de DMO sejam considerados limítrofes nesta classificação¹³.

A literatura disponibiliza uma série de estudos que têm como objetivo analisar as possíveis causas e mecanismos determinantes na massa óssea, seja de forma positiva ou negativa^{14,15}. Independente da metodologia utilizada para o conceito e classificação de DMO acima do normal e DMO alta, os dados que

disponíveis para avaliação das causas relacionadas a estes valores de massa óssea são insuficientes.

1.1. Remodelação Óssea

Os ossos cortical (compacto) e trabecular (esponjoso) encontram-se em estado dinâmico, marcados por um processo contínuo de formação e reabsorção, ao qual chamamos de remodelação óssea. A remodelação óssea ou *turnover* ósseo é a alternância da formação óssea realizada pelos osteoblastos (OB) com a reabsorção realizada pelos osteoclastos (OC), ocorrendo de maneira acoplada. Quando há um desequilíbrio prolongado deste acoplamento favorecendo à reabsorção, surge a osteoporose. Se este desequilíbrio favorece à formação, estamos diante de patologias marcadas por alta massa óssea, como por exemplo, a osteopetrose.

1.2. Biologia Celular na Remodelação Óssea

Os OB, originários de células mesenquimais da medula óssea, são responsáveis pela síntese da matriz orgânica óssea. A modulação da osteoblastogênese ocorre por recrutamento de novos OB e por alteração da sua função. Este processo é regulado por hormônios sexuais, calcitropicos, fatores de crescimento como IGF1, TGF β , e proteínas óssea morfogenéticas (BMPs). Quando os OB não estão ativos no processo de formação da matriz óssea, eles permanecem como células de repouso, conhecidas como *lining cells* ou células de superfície. O maior estímulo para que a superfície celular de repouso torne-se ativa no processo de remodelação é a reparação do dano estrutural. Para que o osso reconheça o sítio do dano, o quanto tem que remover e o quanto de osso precisa ser repostado, uma outra célula, os osteócitos, iniciam a sua atividade. Derivados dos

OB que ficaram incorporados na lacuna da matrix óssea, os osteócitos são as células mais numerosas do tecido ósseo e, possivelmente as de maior importância no processo da remodelação¹⁶. A conexão com outros osteócitos e com as *lining cells* através do seu processo citoplasmático, permite que os osteócitos se arranjam de tal forma por toda a estrutura óssea, que garante a integridade do material e força estrutural do osso.

Os OC são células originárias do compartimento hematopoiético. Habitualmente são multinucleados e situam-se na superfície, dentro da cortical ou no osso trabecular. O controle da osteoclastogênese é regulado por hormônios, citocinas, fator de necrose tumoral (TNF) α , TGF β , e prostaglandina E₂. Recentemente, o receptor ativador do fator nuclear κ B ligante (RANKL) produzido pelos OB foi identificado como sendo uma citocina essencial durante o processo de formação e diferenciação do OC¹⁷. As células estromais da linhagem osteoblástica também produzem a osteoprotegerina (OPG), um receptor decodificador solúvel do RANKL, inibindo assim a osteoclastogênese. Outra citocina, o RANK é um receptor próprio do RANKL expresso nos OC e seus precursores. Ao ser ativado pelo RANKL, o RANK promove a formação, ativação e prolongamento da sobrevivência do OC, por suprimir a sua apoptose.

1.3 Conceito e Fisiopatologia da Osteoporose

Osteoporose é definida como uma desordem esquelética caracterizada por força óssea comprometida predispondo a um aumento do risco de fratura. Força óssea primariamente reflete integração entre densidade óssea e qualidade óssea (*NIH Consensus Development Panel on Osteoporosis*, 2001)¹⁸.

Acredita-se que o incremento de massa óssea ocorra de forma progressiva até a adolescência, sendo que a formação total do esqueleto ocorre ao redor dos

20 anos¹⁹. A partir de então, inicia-se uma fase de quiescência que vai até o período peri-menopausa. Neste momento a perda óssea dá-se de forma lenta, sendo intensificada com a instalação da menopausa propriamente dita, extendendo-se até o final da vida.

1.4 Etiopatogenia da Osteoporose

1.4.1. Menopausa

Em mulheres saudáveis a menopausa é definida como ausência natural da menstruação (amenorréia), por um período de 12 meses consecutivos desde que seja afastada uma causa ou procedimento que possa induzir à interrupção da perda menstrual²⁰. Quando o término natural da menstruação ocorre antes do 45 anos de idade, é considerada menopausa precoce, e, quando tem início após o 53 anos de idade, é classificada como tardia. Existe ainda a condição de falência ovariana, que é uma condição de amenorréia, associada ao aumento das gonadotrofinas antes dos 40 anos de idade.²¹

A falência natural da produção hormonal ovariana tem início alguns anos antes da instalação da menopausa propriamente dita. Esta é acompanhada da diminuição progressiva dos níveis de estrógeno, resultando em um aumento contínuo da remodelação óssea e conseqüente perda de massa óssea²¹. A deficiência estrogênica resulta em maior liberação de interleucina 1 e interleucina 6, potentes estimuladores do recrutamento e da atividade dos osteoclastos. A falta destes hormônios também é responsável por uma diminuição da absorção do cálcio intestinal, possivelmente por causa de uma redução das concentrações da 1,25-dihidroxitamina D [1,25 (OH)2D] total. Observa-se ainda um aumento da excreção urinária de cálcio. Portanto, a menopausa apresenta uma relação com

baixa massa óssea que ocorre em qualquer destas idades, e a quantidade de massa óssea perdida é maior nas mulheres com menopausa precoce.²²

1.4.2. Envelhecimento

Passada a fase de perda óssea acelerada típica da menopausa, tem início uma fase de perda mais lenta relacionada à idade caracterizada por uma baixa remodelação. O osteoblasto trabalha de forma lenta e não consegue preencher eficazmente as lacunas produzidas pelo osteoclasto. Outro fator que contribui para o aparecimento da osteoporose senil, é a deficiência da ação da vitamina D. Esta deficiência consiste na queda da hidroxilação renal da vitamina D que resulta numa diminuição da absorção intestinal de cálcio e redução de sua reabsorção renal, promovendo assim, um aumento dos níveis e da ação do paratormônio (PTH). Este leve hiperparatiróidismo secundário causa um incremento da reabsorção óssea, com a perda da massa óssea progressiva.

2. FATORES DETERMINANTES DA DENSIDADE MINERAL ÓSSEA

2.1. Composição Corpórea

Para alguns autores a massa magra constitui o principal determinante da massa óssea no período pré- menopausa e perimenopausa²³⁻²⁵. O músculo e a massa esquelética podem aumentar em resposta aos estímulos externos, particularmente atividades de carga sobre o osso e pressão na musculatura. O efeito gravitacional do tecido muscular sobre a estrutura óssea estimula o processo de adaptação do osso, com conseqüente estímulo da massa óssea. Entretanto, a força produzida pela contração muscular sobre o arcabouço ósseo, parece ter mais importância do que os efeitos da força gravitacional exercida pelo peso. Já nas mulheres pós-menopausa, os estudos têm evidenciado que a massa gorda está positivamente associada à DMO^{26,27}, particularmente nas mulheres que não estão em terapia de reposição hormonal, via aromatização dos andrógenos adrenais em estrógeno. A massa gorda exerce um efeito mecânico gravitacional sobre o osso, que também é responsável pelo estímulo da formação óssea²⁸, com conseqüente aumento da DMO.

2.2. Hormônios

2.2.1. Leptina

Produto proteico do gen da obesidade, a leptina é um pequeno polipeptídeo produzido pelos adipócitos, sendo considerada por muitos um hormônio anti-obesidade. Este peptídeo regulador do apetite, parece exercer efeitos complexos no osso, ora estimulando a formação óssea (ação periférica), ora estimulando a

reabsorção óssea (via hipotalâmica)²⁹. Inicialmente imaginava-se que a leptina tinha como alvo o SNC, onde regularia o balanço energético. No entanto, os receptores da leptina foram identificados em muitos tecidos periféricos, inclusive osso²⁹. Este hormônio possui ação na regulação e expressão do eixo neuropeptídeo e neuroendócrino, além de ações imunológicas e metabólicas. Age diretamente no sistema nervoso periférico ou indiretamente, via controle hipotalâmico no sistema nervoso autônomo. Especificamente regula o metabolismo da glicose e modelação óssea. A maioria dos obesos tem elevado valor de leptina, o que sugere resistência relativa a este hormônio. Existem também os casos de deficiência congênita de leptina ou mutação do gen da leptina (ou do seu receptor) o que leva a um prejuízo da sua função. Várias linhas de evidência sugerem uma relação entre leptina e saúde óssea, mas as publicações são controversas³⁰. Ratos com mutação inativadora do gen que codifica a leptina, são obesos e hipogonádicos. Possivelmente a obesidade nestes animais age de forma que mantém a integridade óssea. Em humanos, a leptina parece influenciar diretamente a diferenciação do OB. A presença de receptores de leptina nos OB sugere que este hormônio possivelmente aja de forma direta modulando a proliferação celular e apoptose do OB. Em recente revisão, Yilmazi et al., 2005³¹, analisaram a correlação entre leptina e DMO em mulheres pós menopausa. Os autores concluíram que a leptina plasmática circulante não tem um efeito direto na massa óssea destas mulheres. Estes achados conflitantes podem refletir os efeitos dúbios da leptina, a depender do tecido ósseo, maturidade do esqueleto e/ou via de sinalização.

2.2.2. IGF1 e GH

O fator de crescimento IGF1 e o hormônio de crescimento (GH) constituem importantes determinantes do crescimento ósseo longitudinal e da aquisição óssea durante o período pré puberal. Estes hormônios de características anabólicas

estimulam a formação óssea cortical e trabecular, e tem grande importância na remodelação, modelação e manutenção da massa óssea.^{32,33} A manutenção da homeostase do cálcio e a remoção de possíveis danos ósseos são realizados através da remodelação óssea. Ao contrário, a modelação óssea consiste em um processo de desacoplamento (formação/e absorção), que ocorre particularmente durante o crescimento. Sua regulação dá-se por meio de forças mecânicas, auxiliando na manutenção da forma e massa óssea.³⁴ Apesar de exercer uma função relevante no processo do acoplamento (absorção/ reabsorção) durante a remodelação óssea, a participação do IGF1 não é suficiente. O IGF1 sistêmico é inicialmente sintetizado no fígado, por um mecanismo GH dependente.³⁵ Nos condrócitos, a sua síntese é GH-dependente, enquanto nos OB a sua síntese está sob o controle do PTH. Apenas menos de 1% do IGF1 sérico total encontra-se na forma de hormônio livre. A sua principal ação é estimular diretamente o osteoblasto e a formação óssea. No entanto, O IGF1 não tem ação direta na diferenciação das células estromais em OB maduros, porém, indiretamente é capaz de estabilizar a beta catenina, uma molécula de sinalização presente na via WNT, que é fundamental para a osteoblastogênese.³⁶ A função do IGHF1 no OC está menos esclarecida. Sabe-se que o OC expressa receptores para IGF1, que por sua vez, tem ação direta na função dos OC. Mochizuki (1992)³⁷ e Niu (2005)³⁸ observaram que, *in vitro*, o IGF1 promove a síntese do RANKL e, desta forma, estimularia a osteoclastogênese, o que explicaria o seu efeito positivo na reabsorção óssea. Por outro lado, a observação de que o GH pode estimular a osteoprotegerina, portanto, a osteoblastogênese, parece explicar o discreto efeito do IGF1 na massa óssea. O GH é produzido pelos OB em resposta a vários hormônios ativadores do osso, como PTH, estrogênio e proteína morfo óssea (BMP)s. A sua síntese está sob controle de sinais centrais e periféricos, promovida pela liberação do GHRH e diminuída pela somatostatina. O receptor de GH (GHR) é altamente expresso no

fígado, rins, pâncreas, coração, intestino, cartilagem e sistema músculo esquelético. A liberação do GH também sofre influência de um outro aminoácido, a grelina, que atua como um indutor endógeno via hipotalâmica. Além de exercer efeitos na diferenciação de das células da linhagem osteoblástica, o GH estimula de forma direta a função de maturação do OB ou indireta via IGF1. Da mesma forma que o PTH, O GH estimula a produção do IGF1 no osso, porém, este estímulo pró IGF1 se estende a outros tecidos que não o ósseo, particularmente a nível hepático.³⁸ O mecanismo de *downregulation* ao qual o GH encontra-se submetido, é resultado da ação inibitória direta do IGF1, via somatotrofina, e indireta, via somatomedina. Acrescente-se ainda que a secreção do GH também é regulada por esteróides sexuais e TSH, enquanto que os glicocorticóides inibem a sua secreção. A diminuição progressiva dos níveis de GH que acompanha o envelhecimento, é marcada por uma perda progressiva da massa e força muscular, aumento da gordura corpórea, e uma diminuição da DMO.

2.3. Determinantes Genéticos da Massa Óssea

Os fatores genéticos exercem um papel de grande importância na determinação da DMO, visto que apresentam estreita relação com o pico de massa óssea e com a perda óssea relacionada à idade. São vários os genes envolvidos no metabolismo ósseo. Existem aqueles que são codificadores de hormônios esteróides, calciotrópicos e seus receptores, proteínas de matriz óssea, citocinas e fatores de crescimento. A existência de variações seqüenciais presentes no genoma humano, sabidamente reconhecida como polimorfismo genético tem se mostrado freqüente. Em 1997, Johnson et al.³⁹ descreveram a ocorrência de uma síndrome onde famílias inteiras apresentavam alta DMO herdada como traço autossômico dominante, secundária à alteração de um único gene localizado no

cromossomo 11 (gene LRP5). A descoberta de mutações deste gen como suposta causa de DMO alta e da osteoporose pseudoglioma, foi motivo das primeiras associações da via WNT e o controle da massa óssea.⁴⁰⁻⁴³

2.3.1 Genes da Família WNT

Os genes WNT constituem atualmente uma família de 19 glicoproteínas secretadas por uma variedade de células., que têm como função ativar co receptores trans-membrana⁴⁴. Sua ação depende da célula alvo. As glicoproteínas da via WNT são secretadas pelos OB e participam da regulação da sua diferenciação. Eles interagem com as BMPs. As BMPs necessitam da via WNT para estimular os OB e aumentar a expressão dos genes WNT. Alguns trabalhos mostram que as BMP podem aumentar a produção da WNT, via produção de MsX59.⁴⁵ A via de sinalização WNT está envolvida em vários eventos de diferenciação durante o desenvolvimento embriogênico e, se ativado de forma aberrante, pode levar à formação tumoral.

2.3.2. Co-receptores LRP5 e LRP6

Recentemente identificados como potentes reguladores da massa óssea, estes genes são receptores proteicos de baixa densidade que afetam profundamente o metabolismo ósseo ao agirem na sinalização WNT⁴⁶, e é um receptor essencial para a homeostase do colesterol. Mutações do LRP5 estão relacionadas a condições de alta massa óssea, possivelmente por diminuição da apoptose de OB e osteócitos (via sinalização WNT). Variações de polimorfismo no LRP5 podem contribuir para diferença da massa óssea na população geral. Alguns autores⁴⁷ mapearam uma mutação do gene LRP5, onde a mudança em um único aminoácido afetou todos os membros da família. Estes apresentavam alta massa óssea e anormalidades crânio facial. Vários estudos comprovam esta associação

do polimorfismo do LRP5 com enfermidades associadas à alta DMO ou baixa DMO, porém, alguns trabalhos não comprovaram esta relação. A associação do conteúdo mineral ósseo, com o polimorfismo do gene LRP5 também foi identificada durante a adolescência⁴⁸. Em contra partida, Daniel Koller et al. 2005⁴⁶ sugerem que a variação no gen LRP5 não constitui o maior fator de contribuição na variabilidade observada no pico de massa óssea, na coluna ou fêmur proximal em mulheres brancas. No que se refere à população masculina, Crabbe et al., 2005⁴⁷, estudaram 66 pro bandas de pacientes com osteoporose idiopática, e encontraram apenas 2 variâncias com mutação do LRP5, que fossem funcionalmente relevantes na implicação de osteoporose idiopática em homens.

Recentemente, Barros E et al.⁴⁸ acompanharam clinicamente dois irmãos portadores da síndrome de osteoporose-pseudoglioma (OPPG). Com o objetivo de identificar possível mutação, os autores estudaram o gene LRP5 destes pacientes e curiosamente encontraram ausência de mutação no terceiro códon do exon 16 nos dois irmãos e nos pais que eram consanguíneos. Simultaneamente 50 participantes saudáveis foram avaliados para aquele exon, e nenhum deles apresentou tal mutação. Com base na sua análise, os autores acreditam que a mutação encontrada seja responsável pelas alterações clínicas dos seus dois pacientes, o que pode sugerir um novo capítulo na mutação responsável pela OPPG em humanos. Assim como o LRP5, o LRP6 age como co receptor para as proteínas WNT. Recentes estudos mostraram que o LRP6 é um elemento indispensável na via de sinalização WNT, interagindo com vários componentes desta via. No entanto, quando se liga à proteína DICKOPF (DKK) antagoniza a sinalização da via WNT. Em 2005, Ichikawa et al.⁴⁹ descreveram a relação de uma rara mutação do LRP6 e doença arterial coronariana precoce, acompanhada de valores altos de LDL, triglicérides alto, hipertensão arterial, diabetes, e baixa densidade mineral óssea, o que sugere a sua participação na síndrome plurimetabólica.

2.3.3. Genes Dkkopf e Esclerostina

Os genes Dkkopf (DKK) e esclerostina (SOST) participam da via de sinalização WNT de forma inibitória, através da sua forte afinidade e ligação com o LRP5/LRP6. Estes dois inibidores são expressos especificamente no tecido ósseo adulto e têm sido alvo de interesse na terapêutica da osteoporose, visto que a sua não expressão, resultaria em efeito anabólico sobre o osso. O DKK-3, em particular, pode funcionar como um supressor do fator de crescimento humano.⁴⁷ A esclerostina é quase que exclusivamente expressada pelo osteócitos, as células mais numerosas do tecido ósseo, que funcionam como mecano sensores e de fundamental importância na regulação da remodelação óssea. Sua expressão diminui em resposta à carga mecânica⁵⁰. A perda de função do gen SOST resulta em uma patologia caracterizada por apresentar alta DMO, a esclerostiose, enquanto que a doença de Van Duche é consequência da *down regulation* da expressão deste gen⁵¹.

2.3.4. Frizzled

São receptores associados ao LRP5 (proteínas de transmembrana). Quando se ligam ao complexo WNT – LRP5/LRP6, iniciam uma série de etapas que resultam na liberação da β catenina. Quando esta entra no núcleo, liga-se ao fator de transcrição celular (TCF), para ativar a expressão dos genes alvos. Esta combinação ativa a expressão do gen RUNX 2, que então controla a diferenciação-maturação do OB⁵¹.

2.3.5. Alox 15

O gen Alox 15 é responsável pela codificação da lipoxigenase 12/15, reconhecida como uma enzima que aumenta a produção *peroxisome proliferator-activated receptor γ* (PPAR γ)⁵². Por outro lado, sabe-se que a ativação da via de

sinalização PPAR γ nas células progenitoras mesenquimais aumenta a adipogênese e inibe a osteoblastogênese. Lecka-Czernik B, et al.⁵² (2002) observaram que a deleção deste gene em modelo animal ocasionou um aumento significativo da DMO do corpo total e que a inibição farmacológica da enzima que o codifica diminui de forma significativa a perda óssea em ratas ooforectomizadas.

3. DENSIDADE MINERAL ÓSSEA ALTA

3.1. Diagnóstico Densitométrico

A importância de identificar os pacientes cujos valores de DMO encontram-se elevados, deve-se ao fato de que estas alterações podem estar relacionadas a patologias hereditárias, tratáveis, e cujos mecanismos fisiopatológicos podem ser objeto de pesquisa na busca de novos fármacos.

A avaliação da massa óssea pela tecnologia DXA (*gold standard* para quantificação e classificação da DMO areal) descreve a densidade óssea em valores absolutos (g/cm^2).⁵³ O T-score e o Z-score são utilizados para expressar a variação da DMO, e o seu cálculo fundamenta-se na unidade estatística de desvio padrão (DP).⁵³ Calculado com base em banco de dados de mulheres brancas, com idade entre 20-29 anos (NHANES III)⁵⁴, o T-score determina o número de DP que a DMO do paciente está acima ou abaixo da média em relação à DMO de uma população de referência de jovens-normais. É utilizado para diagnóstico, avaliação do risco de fratura e acompanhamento de tratamento de pacientes com osteopenia e/ou osteoporose.

$$\text{T-score} = \frac{\text{DMO do paciente} - \text{DMO jovem-normal de referência}}{\text{DP jovem-normal de referência}}$$

Visto que a DMO habitualmente diminui com o aumento da idade, o Z-score é empregado para descrever tais alterações. Na prática, representa o número de DP que a DMO do paciente está acima ou abaixo da média da DMO para uma população de referência com a mesma idade.

$$\text{Z-score} = \frac{\text{DMO paciente} - \text{DMO referência para a mesma idade}}{\text{DP referência da mesma idade}}$$

3.1.2. Como Identificar a DMO Alta no Exame de Densitometria?

São várias as doenças que causam aumento da densidade óssea, porém a detecção de tais patologias de forma individual é incomum⁵⁵. O quadro 1 descreve de forma simplificada algumas destas enfermidades

Quadro 1. Condições que alteram a DMO

Doenças associadas a valores altos de DMO
Doenças do metabolismo ósseo: (Hipervitaminose [A/D], fluorose, envenenamento por metais pesados, etc.)
Doenças degenerativas, artrite / colapso vertebral
Metástase óssea, Paget
Displasias e disostoses (displasia crânio diáfise, osteopetrose, etc.)
Implantes metálicos/próteses (cirúrgica), artefatos metálicos
Hiperostose esquelética idiopática difusa (DISH)
Osteomielite
Tratamento com ranelato de estrôncio

A figura 1 mostra os resultados densitométricos de um paciente com osteopetrose.

Região	BMD (g/cm²)	T-score	Z-score
L1	1.896	8.8	10.8
L2	1.896	7.8	10.0
L3	2.117	9.4	11.7
L4	2.295	10.7	13.1
Total	2.048	9.1	11.3

Figura 1 – Osteopetrose			
--------------------------------	--	--	--

As alterações ósteo-degenerativas, calcificações do tecido mole, osteófitos, escoliose, espondilite e fraturas por compressão aumentam sua incidência com o avanço da idade, o que pode superestimar de forma artificial os valores de DMO na coluna lombar⁵⁶ (Fig. 2). No quadril, são várias as condições que aumentam de forma equivocada a DMO, como por exemplo, a doença de Paget, calcificações vasculares e osteoartrose (Fig. 3).^{57,58}

Região	BMD (g/cm ²)	T-score	Z-score
L1	1,041	1,1	3,1
L2	1,087	0,5	2,8
L3	1,167	0,8	3,2
L4	1,112	-0,0	2,4
Total	1,106	0,5	2,8

Figura 2 – 73 anos – Osteoartrose

Região	BMD (g/cm ²)	T-score	Z-score
Colo	1,288	3,9	5,1
Trocanter	0,751	0,5	1,2
Inter	1,137	0,2	0,8
Total	1,045	0,8	1,6
Wards	0,892	1,3	3,2

Figura 3 – 54 anos – Osteoartrose

Portanto, a identificação de indivíduos cujos valores densitométricos apresentam uma relação real com patologias responsáveis pelo incremento da

massa óssea, deve estar fundamentada em exames onde a aquisição e análise dos mesmos, foram obtidas por profissional capacitado e habilitado, segundo as normas da SBDens e ISCD^{10,11}.

3.1.3. Reconhecimento de DMO Supra Normal

Durante o último consenso realizado para o desenvolvimento das posições oficiais ano 2007, questões relevantes foram abordadas pelos membros da ISCD. A importância da definição de um limite superior de normalidade de DMO, a relação e sensibilidade de valores supostamente elevados de DMO com doenças que aumentem o risco de fraturas, e a sua real incidência foram objeto de discussão e controvérsias. A utilização de um T-score $\geq +2.5$, na ausência de artefatos, parecia mais aceitável para esta definição., visto que representaria o ponto de corte oposto (-2.5 DP) internacionalmente empregado no diagnóstico de osteoporose. Neste mesmo ano Chavassieux et al.⁵⁷ reconheceram que independente de valores aumentados de DMO, a resistência óssea pode estar diminuída, portanto, um T-score elevado não representa necessariamente um menor risco de fraturas.

Baseado neste contexto, a identificação de indivíduos com valores densitométricos que ultrapassam os limites de normalidade, deve ser valorizada, visto que os mesmos podem estar expostos a um maior risco de fraturas, secundária à alteração na qualidade óssea. Ademais, a presença de valores supra normais de DMO, pode estar associado a outras patologias não ósseas, como por exemplo o câncer de mama.e hiperandrogenismo feminino^{59,60}. Independente das opiniões controversas no que se referem ao ponto de corte a ser utilizado, ou mesmo à escolha entre T-score e Z-score para identificação de DMO supra normal, alguns estudos têm descrito a prevalência de mulheres com massa óssea acima do normal (segundo a OMS), sem qualquer relação com patotologias ósseas⁶⁰.

Os estudos atuais têm contemplado de forma intensa a fisiologia do metabolismo ósseo. Reconhece-se com solidez que o pico de massa óssea e a sua manutenção são influenciados por uma variedade de fatores que não patológicos.^{61,62} É evidente que algumas mulheres pós-menopáusicas ou com idade mais avançada permanecem com a sua massa óssea normal, ou acima dos atuais critérios de normalidade. O grande desafio não consiste em identificá-las, mas sim, encontrar os possíveis fatores associados à sua preservação, e usá-los como uma ferramenta para prevenção, ou até tratamento da osteoporose.

4. JUSTIFICATIVA DO ESTUDO

- Por que algumas mulheres apresentam massa óssea superior aos níveis considerados normais para sua raça e idade?
- Por que algumas mulheres apresentam massa óssea superior aos níveis considerados normais para sua raça e idade, inclusive no período pós menopausa?
- Por que algumas mulheres apresentam massa óssea superior aos níveis considerados normais, quando comparadas à população jovem, mesmo após a instalação da menopausa?

A Unidade de Densitometria Óssea do Pam Heliópolis (São Paulo) realiza semanalmente 100 exames de densitometria óssea da coluna lombar e fêmur proximal. Analisando os laudos desses exames observamos que algumas pacientes mostram valores de DMO acima da média de acordo com a classificação da Organização Mundial de Saúde⁹, em todos os seguimentos analisados da coluna lombar e fêmur proximal.

São poucos os estudos na literatura que analisam a alta densidade nas mulheres pós-menopausa e idosas, bem como quais os fatores preditores envolvidos na manutenção desta DMO acima do normal. Até o momento as pesquisas realizadas avaliaram a relação do estilo de vida, fatores dietéticos parâmetros antropométricos e atividade física com a DMO alta. Esperamos identificar possíveis fatores preditores envolvidos na manutenção de alta densidade mineral óssea, e desta forma diminuir a incidência de osteoporose, e de fraturas por fragilidade.

5. OBJETIVOS

5.1. Geral

- Analisar os fatores clínicos e laboratoriais associados à alta densidade mineral óssea em mulheres brasileiras pós menopausa com 45 anos e mais.

5.2. Específicos

- Caracterizar a população segundo as características demográficas, antropométricas, idade de menarca, idade de menopausa, composição corpórea, medidas de densidade mineral óssea
- Identificar a existência do consumo de medicamentos supostamente mantenedores e protetores da DMO
- Analisar os resultados de exames laboratoriais envolvidos no metabolismo ósseo e sua possível relação com a manutenção da alta DMO nas mulheres pós-menopausa
- Analisar a correlação entre a densidade mineral do colo do fêmur, fêmur total e do corpo inteiro, as variáveis hormonais e de composição corpórea.

6. CASUÍSTICA E MÉTODOS

Esta pesquisa foi desenvolvida pelo Serviço de Reumatologia do Complexo Hospitalar Heliópolis, em conjunto com a Disciplina de Reumatologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP). O exame de densitometria óssea foi realizado durante a rotina do Posto de Assistência Médica Heliópolis. Este Posto de atendimento médico pertencente ao Sistema Único de Saúde Pública (Complexo Hospitalar Heliópolis) e está localizado na região sul da capital, atende pacientes da região sul de São Paulo e das cidades de Santo André, São Bernardo, São Caetano do Sul e Diadema. O Sistema Único de Saúde permite que qualquer indivíduo seja matriculado na Unidade para tratamento médico, o que amplia a sua capacidade de atendimento.

6.1. Delineamento do Estudo

Este é um estudo transversal, do tipo observacional, onde os casos são as voluntárias com valores de DMO acima do normal e os controles aquelas com valores de DMO que não preenchiam tal critério.

6.2. População do Estudo

Selecionamos 570 mulheres sadias pós menopausa, com idade maior ou igual a 45 anos, cujos exames de rotina mostraram valores de DMO da coluna lombar e fêmur proximal acima do normal (sujeito de pesquisa), que representaremos com as iniciais DMOAL (densidade mineral óssea alta).

O grupo controle (GC) contido nesta amostra foi formado por mulheres com as características já referidas, porém, os valores de DMO não estavam acima do normal.

6.2.1. Critérios para Densidade Mineral Alta

Definimos como densidade mineral alta (ou acima do normal) aquelas voluntárias cujos resultados mostraram valores acima da normalidade, (maior que 0,1 desvio padrão), portanto, acima dos valores normais segundo os critérios da OMS, e que apresentassem o percentual do índice T maior que 100% em **todos** os sítios estudados (L1, L2, L3, L4, L1-L4, colo fêmur, wards, trocanter, fêmur total). O valor mínimo absoluto da DMO areal (g/cm^2), deveria ser $\geq 1,228 \text{ g}/\text{cm}^2$ para o seguimento L1-L4 e $\geq 1,006 \text{ g}/\text{cm}^2$ para o colo do fêmur, limite mínimo para que a paciente pertencesse ao quartil mais alto.

6.2.2. Grupo Controle

O grupo controle foi constituído de mulheres com a mesma faixa etária, com resultados de exame de densitometria óssea da coluna lombar ou fêmur proximal que não apresentassem massa óssea acima do normal (segundo os critérios da OMS), ou que apresentassem perda óssea. Estas pacientes foram selecionadas de forma seqüencial, de acordo com a data de agendamento dos seus exames.

Todas as voluntárias foram convidadas pessoalmente, na ocasião do recebimento do resultado dos seus exames, ou por contato telefônico a participar do estudo. Aquelas que concordaram em participar do estudo, assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido, após leitura, e compreensão do mesmo. Todas as pacientes realizaram o exame de densitometria óssea de corpo inteiro, responderam a questionários de saúde, inquérito alimentar e atividade física e realizaram exames laboratoriais.

6.3. Critérios de Inclusão

6.3.1. Voluntárias com DMO Alta (ou acima do normal)

Foram incluídas na pesquisa todas as voluntárias que realizaram exames de densitometria óssea no período de março de 2006 a março de 2007. As imagens obtidas das voluntárias selecionadas foram avaliadas individualmente por um único profissional médico treinado (pesquisadora do estudo). Aquelas que apresentaram artefatos, deformidades, falha técnica na aquisição e/ou análise, foram excluídas. Inicialmente analisamos os resultados dos exames de densitometria óssea da coluna lombar e fêmur proximal no que diz respeito aos valores absolutos, valores relativos e desvios padrão para todos os segmentos daqueles sítios (L1; L2; L3;L4; L1-L4; colo do fêmur; região de Wards; trocanter e fêmur total). Esta análise foi realizada baseada no índice T. Para tanto, comparamos os resultados das nossas voluntárias com o banco de mulheres com idade entre 20 e 45 anos. Este banco de dados faz parte do *software* do equipamento utilizado na pesquisa, um densitômetro de marca GE Medical Systems LUNAR versão 8.7. Os critérios usados para definição de DMO alta já foram descritos no item 6.2.1.

Mesmo utilizando essa seleção bastante criteriosa em relação à qualidade dos exames de densitometria óssea, optamos por não incluir o sítio de coluna lombar na análise final, visto que o mesmo é mais susceptível a artefatos e deformidades, o que poderia super estimar a DMO final.

6.3.2. Voluntárias Controle

Foram incluídas as voluntárias que realizaram exames de densitometria óssea em igual período do ano, de acordo com o que descrevemos no item 6.2.2.

6.4. Critérios de Exclusão

- a) Presença de quaisquer doenças prévias e/ou uso de medicamentos que sabidamente alteram o metabolismo ósseo, tais como hipertireoidismo, hiperparatireoidismo, doença maligna, uso de corticosteróides, anticonvulsivantes, etc.
- b) Mulheres em uso de terapia de reposição hormonal por um período maior que três meses durante o último ano.
- c) Mulheres com altura maior que 1,90 metros por causa da não adequação do tamanho do corpo ao aparelho de densitometria, o que impossibilitaria a sua visualização no exame.
- d) Presença de artefatos e /ou deformidades no exame de densitometria óssea.
- e) Falha técnica na aquisição e/ou análise do exame de densitometria óssea, segundo os critérios da Sociedade Brasileira de Densitometria Clínica (SBDens).

6.5. Metodologia

6.5.1. Contato do PAM Heliópolis com as Voluntárias da Pesquisa

Todas as voluntárias foram convidadas pessoalmente, na ocasião do recebimento do resultado dos seus exames ou por contato telefônico, a participar do estudo. Aquelas que concordaram em participar do estudo assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido, após leitura e compreensão do mesmo.

As mulheres selecionadas para participar do projeto de pesquisa foram agendadas por telefone para realização de densitometria óssea de corpo inteiro. Após a realização do exame de densitometria óssea do corpo inteiro, todas as mulheres responderam a um questionário geral (Anexo I) onde constavam

identificação, antecedentes pessoais, passado mórbido, estilo de vida, uso de medicamentos e hábitos relacionados a fatores de risco para osteoporose, uso de drogas. Este questionário foi elaborado pelo Serviço de Reumatologia do Hospital Heliópolis e foi aplicado pela pesquisadora do estudo. No entanto o mesmo não foi submetido à validação.

Para a avaliação da atividade física, utilizou-se o questionário de atividade física habitual de Baecke (Anexo II). Este instrumento já foi validado para homens adultos e idosos⁶¹ e já foi utilizado em estudo epidemiológico com homens do município de São Paulo. O escore total é calculado pela soma dos escores de atividades físicas ocupacionais e de exercícios físicos no lazer (Anexo III).

As voluntárias foram orientadas para uma consulta de retorno com agendamento prévio, quando então realizaram os exames laboratoriais a serem descritos. Estes exames foram realizados em um período máximo de dois meses a contar da data da realização da densitometria óssea de rotina.

6.5.2. Classificação das Variáveis Qualitativas

Algumas respostas obtidas no questionário geral foram transformadas em variáveis qualitativas com o propósito de serem aplicadas à análise estatística. O mesmo foi feito com os resultados laboratoriais.

- Idade da menarca

Menor que 15 anos = 1

Maior ou igual a 15 anos = 2

- Tempo de exposição ao estrógeno

10 a 20 anos = 1

21 a 40 anos = 2

41 anos e mais = 3

- FSH
Até 20 mU/L: pré-menopausa = 1
Maior que 20 mU/L: pós-menopausa = 2
- Número de filhos
Nenhum
1 a 3 filhos
4 a 6 filhos
7 a 9 filhos
10 ou mais
- Nível de escolaridade
Analfabeto
Saber ler e escrever
1º grau incompleto
1º grau completo
2º grau incompleto
- Índice de massa corpórea (IMC)
18,5 a 24,9: normalidade
25 a 29,9: sobrepeso
30 a 39,9: obesidade moderada
40 a 49,9: obesidade mórbida
- Valores de vitamina D
10 a 20: = 0
20 a 30: = 1
Maior ou igual a 30: = 2
- Osteocalcina, CTX, cálcio, fosfatase alcalina
Vitamina B12, IGF1, leptina:
Zero: baixa
Hum: normal
Dois: alta

6.5.3. Medidas Antropométricas

A aferição do peso foi feita utilizando balança de consultório (Filizola®) e da altura por um estadiômetro marca Seca. O peso foi medido em quilogramas (kg) com aproximação de 100 g.e a altura em centímetros com aproximação de 1 cm. Todas as medidas foram realizadas por uma única técnica de densitometria óssea. O índice de massa corporal (IMC) foi calculado pela razão do peso em quilogramas (kg) e o quadrado da altura (m²).

6.5.4. Densitometria Óssea

A densidade mineral óssea do corpo inteiro bem como as medidas de composição corpórea foram realizadas em um densitômetro de dupla emissão de raio X, modelo DPX IQ (LUNAR Corp., Madison, WI, USA). O mesmo equipamento foi utilizado na realização do exame de densitometria óssea da coluna lombar, fêmur proximal.

Sabendo-se que a DMO é diretamente influenciada de forma positiva pelo peso corpóreo, a avaliação da DMO do antebraço constitui uma ferramenta importante no sentido de avaliar tal resultado sem a influência direta sofrida pela carga corpórea. Com esta finalidade, um subgrupo de voluntárias também realizaram aferição da DMO do antebraço não dominante (dados serão demonstrados em uma segunda etapa). Para tanto utilizaremos o *software GE Medical Systems LUNAR* versão 8.7 no referido densitômetro. O coeficiente de variação das medidas densitométricas na Unidade de Densitometria do PAM Heliópolis foi calculado de acordo com as posições oficiais da SBDens¹¹. Os resultados obtidos foram de 2,0% para o colo do fêmur, 1,5% para o fêmur proximal, 1,8% para a coluna lombar e 1,9% para o corpo inteiro. As aquisições do

exame foram feitas por uma única técnica, assim como a análise das imagens que foi realizada por um único profissional médico.

6.5.5. Exames Complementares

a) Dosagem Sérica de Leptina

- Valores de referência
Mulher não obesa: 2,0 a 17,0 ng/mL
Mulher obesa: 7,0 a 59,0 ng/mL
Método: ensaio imunofluorométrico

b) Marcadores do *Turnover* Ósseo

b.1. Marcadores ósseos de formação

b.1.1 Osteocalcina

método: quimioluminiscência

- Valores de referência
Pré-menopausa, >20 anos: 11 a 43 ng/mL
Pós-menopausa (sem TRH): 15 a 46 ng/mL

b.1.2. Fosfatase alcalina

método: contínua – espectrofotométrica-AMP (IFCC)

- Valores de referência
Até 105 u/L

b.2. Marcadores de reabsorção

b.2.1 CTX – Cross Laps

- Valores de referência
Pré-menopausa > 20 anos: 70 a 573 pg/mL

Pós-menopausa > 55 anos: até 1,088 pg/mL

método: eletroquimioluminométrico

c) Dosagem Sérica de FSH

- Valores de referência

Menopausa: 21,7 a 153.0 Um/L

método: quimioluminiscência

d) Dosagem Sérica de Estradiol

- Valores de referência

Após a menopausa: < 30 pg/mL

método: quimioluminiscência

e) Dosagem Sérica de IGF1

método: IRMA

- Valores de referência

40 a 50 anos: 100 a 494 ng/mL

51 a 70 anos: 70 a 258 ng/mL

f) Dosagem Sérica de Cálcio

método: Arzenaso III

- Valores de referência

1,0 a 1,2 mmol/L

- **Dosagem sérica de 1.25 dihidroxi vitamina D**

- Valores de referência

18 a 78 pg/mL

método: HPLC

g) Dosagem Sérica de Vitamina B12

Método: quimioluminiscência

Valores de referência

193 a 982 pg/mL

6.5.6. Variáveis do Estudo**6.5.6.1. Variável Dependente:** DMO (densidade mineral óssea) em g/cm²

- Densidade mineral óssea do corpo total (DMOCT)
- Densidade mineral óssea do colo do fêmur (DMOCF)
- Densidade mineral óssea do fêmur total (DMOFT)

6.5.6.2. Variáveis Independentes

- Idade: expressa em anos completos
- Raça: branca e não branca
- Medidas antropométricas: peso em gramas (g), altura em centímetros (cm), índice de massa corpórea (IMC)
- Medidas da composição corpórea: massa gorda total e regional (g), massa magra total e regional (g)
- Idade da menarca
- Idade da menopausa
- Tempo de exposição ao estrógeno (TEE2)
- Cálcio, fosfatase alcalina, 1,25 diOH vitamina D, osteocalcina, CTX, leptina, IGF1, Vitamina B12
- FSH, estradiol
- Uso de tiazídicos
- Uso de diurético de alça
- Uso de inibidores de enzima conversora (IECA)
- Uso de betabloqueador
- Uso de estatinas

- Avaliação da atividade física (Teste de Baecker)
- Fumo
- Álcool
- Número de filhos
- Amamentação
- Fratura prévia pessoal
- Fratura prévia materna
- Fratura prévia paterna
- Uso atual de cálcio e vitamina D
- Terapia de reposição hormonal prévia
- Diabetes
- Nível de escolaridade

6.6. Análise Estatística

O cálculo do tamanho da amostra foi realizado através da análise preliminar dos resultados das primeiras cem voluntárias. Supondo o valor de $\alpha = 5\%$, poder do teste de 80%, a prevalência de sobrepeso de 40% e *Odds Ratio* = 1,0, estimamos um número de 144 casos e 144 controles.

6.6.1. Testes Aplicados

Aplicamos testes e técnicas estatísticas não paramétricas, porque as condições (suposições) para a utilização de técnicas e testes paramétricos, como a normalidade (teste de Anderson-Darling, gráfico de distribuição de normalidade, sigla AD) e homocedasticidade (homogeneidade das variâncias, teste de Levene), não foram encontradas (principalmente a normalidade) neste conjunto de dados.

- **Curva Roc:** a fim de determinar o melhor ponto de corte de algumas variáveis na determinação de densidade mineral alta nas regiões do colo do fêmur, fêmur total, corpo total e no conteúdo mineral ósseo do corpo total. Assim, as variáveis

que tiverem bons resultados na curva Roc, foram utilizadas como categóricas na regressão logística. Desta forma teremos um *Odds Ratio* de interpretação mais prática e melhor.

- **Análise multivariada:** regressão logística, com o objetivo de identificar os fatores que melhor “influenciam” na determinação de densidade alta. O modelo é genericamente expresso da seguinte forma:

$$y_i = \frac{\exp^{\alpha + \beta_1 x_1 + \dots + \beta_n x_n}}{1 + \exp^{\alpha + \beta_1 x_1 + \dots + \beta_n x_n}} + \varepsilon_i$$

onde:

- y_i : i-ésimo valor predito;
- α : valor de intercepto, quando $x_i = 0$;
- β : fator multiplicador da variável explicativa;
- x_i : i-ésima observação da variável explicativa;
- ε : erro, ou seja, parte não explicada pelo modelo. O erro deve ter distribuição normal com média zero e variância constante, ou seja, $\varepsilon_i \sim N(0, \sigma^2)$.

- **Teste de aderência:** Pearson, Deviance e Hosmer–Lemeshow. Verificam a aderência do modelo encontrado.
- **Odds Ratio:** para calcular a razão de chances. É a chance de se observar casos expostos ao fator de risco sobre a chance de se observar controles expostos ao fator de risco. Se a exposição ao fator de risco for a mesma para casos e controles o odds ratio vale 1.
- **Análise multivariada discriminante:** para criar uma função discriminante.
- **Teste de Mann-Whitney:** para comparar as variáveis quantitativas entre os grupos de densidade alta e baixa.

Os modelos utilizados foram aqueles que maximizaram o coeficiente de determinação, e em todas as análises utilizou-se o nível de significância de 0,05 (5%). Os intervalos de confiança foram construídos com 95% de confiança estatística. Nesta análise foram utilizados os softwares: SPSS V11.5, Minitab 14 e Excel XP.

6.7. Questões Éticas

O estudo foi submetido e aprovado pelas Comissões de Ética em Pesquisa do Hospital Heliópolis e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP) (Anexo IV). Todos as participantes foram orientadas a respeito do projeto e objetivos da pesquisa, e a sua inclusão esteve condicionada à assinatura de um termo de consentimento livre e esclarecido (Anexo V).

7. RESULTADOS

Do total de 518 mulheres selecionadas inicialmente (sujeito e controle), 181 foram excluídas por razões variadas: presença de artefatos e /ou deformidades no exame de densitometria óssea, falha técnica na aquisição e/ou análise do exame de densitometria óssea (69 pacientes), não realização de exames laboratoriais (28 pacientes), medicações não autorizadas (31 pacientes), e não assinaram o TCLE (53 pacientes). A amostra final do estudo foi de 337 mulheres, onde 180 foram classificadas como DMOAL e 157 como GP. No grupo de mulheres DMOAL 106 eram brancas (58,9%) e 72 eram não brancas (40%). No GC, o total de mulheres brancas foi de 98 mulheres (55,7%) e não brancas foi de 72 (40,9%).

7.1. Mulheres com DMOAL

Os dados das características demográficas, medidas de tendência central e dispersão para a composição corpórea e DMO são mostrados na Tabela 1.

A média de idade das mulheres com DMOAL foi de 60,1anos (DP = 8,3); O peso, a altura e o IMC médio foram 77,0 kg (DP = 11,7), 1.57cm (DP = 0,05) e IMC de 31,1 kg/m² (DP = 4,9) respectivamente. A média de idade da menarca foi 12,8 anos (DP = 1,8), menopausa, 49 anos (DP = 5,3) e TEE2, 36,3 anos (DP = 5,8) nesta ordem (tabela 1).

Tabela 1. Estatística descritiva das características demográficas, antropométricas, medidas de tendência central e dispersão para a composição corpórea e densidade mineral óssea em mulheres pós-menopausa com idade de 45 anos ou mais - Grupo DMOAL

Variável	Média (DP)	Mediana	Q1 / Q3	n
Idade (anos)	67,8 (7,4)	60,5	54,0 / 66,0	180
Idade da menarca (anos)	12,8 (1,8)	13,0	11,0 / 14,0	172
Idade da menopausa (anos)	49,0 (5,3)	50,0	46,0 / 52,8	166
Antropometria				
Peso (g)	77,0 (11,7)	78,0	68,5 / 86,0	179
Altura (cm)	157,0 (0,05)	160,0	160,0 / 160,0	180
IMC (kg/m ²)	31,1 (4,9)	30,9	27,6 / 34,2	179
Composição corpórea				
Massa gorda (g)				
Total	28,172 (8,394)	27,845	22,631 / 33,876	178
Tronco	13,707 (3,843)	1,680	11,1610 / 15,736	169
Pernas	9,852 (3,786)	9,489	6,967 / 12,611	178
Massa magra (g)				
Total	46,467 (6,773)	45,999	42,371 / 49,878	178
Tronco	21,840 (3,771)	21,359	19,528 / 23,718	178
Pernas	15,710 (2,211)	15,298	14,167 / 16,937	178
Densidade mineral (g/cm ²)				
DMOCT	1,220 (0,05)	1,200	1,200 / 1,100	178
Colo fêmur	1,130 (0,11)	1,100	1,200 / 1,000	180
Fêmur total	1,190 (0,1)	1,200	1,110 / 1,200	179

DMOAL = densidade mineral óssea alta; DMOCT = densidade mineral óssea corpo total; IMC = índice de massa corpórea; DP = desvio padrão; Q1 = primeiro quartil; Q3 = terceiro quartil

As tabelas 2a e 2b mostram os coeficientes do modelo obtidos pela regressão múltipla que determinam a probabilidade de DMOAL nas regiões do colo do fêmur, fêmur total, corpo total e CMO do corpo total. Os modelos utilizados foram aqueles que maximizaram o coeficiente de determinação (r^2) e em todas as análises utilizou-se o nível de significância de 5%. Utilizamos a técnica de Stepwise, onde a cada passo foi incluída a variável mais importante para testar o modelo. De todas as variáveis testadas, as que influenciaram significativamente a DMOAL, são as mostradas nas referidas tabelas.

Na primeira linha nós temos o valor de r^2 que mede o quão bom é o modelo. Podemos ver que o melhor modelo foi o criado para “Fêmur Total” com resultado de 98,8%.

A seguir temos os coeficientes das variáveis que fazem parte de cada um dos modelos. Ao lado dos coeficientes, nós mostramos o valor de “p” que mede a significância destes coeficientes. Os modelos criados a partir das regressões lineares múltiplas foram os seguintes:

$$\text{Colo total} = 0,892 + 0,023 \cdot \text{massa magra do tronco} + 0,118 \cdot \text{T do colo total} + 0,008 \cdot \text{fratura prévia} + 0,036 \cdot \text{hipertiroidismo}$$

$$\text{DMOCF} = 0,888 - 0,018 \cdot \text{Grupo} + 0,114 \cdot \text{Z colo} + 0,114 \cdot \text{T colo total} - 0,109 \cdot \text{Z colo total} - 0,011 \cdot \text{TRH} - 0,015 \cdot \text{hipotiroidismo} - 0,070 \cdot \text{hipertiroidismo}$$

$$\text{CMOT} = 1554 - 90,33 \cdot \text{Grupo} - 8,79 \cdot \text{IMC} + 0,22 \cdot \text{massa magra total} + 0,049 \cdot \text{massa magra da perna} + 0,044 \cdot \text{T cálcio total do osso} + 110,63 \cdot \text{T colo total} - 2,026 \cdot \text{leptina}$$

Tabela 2a. Modelo de Regressão Logística para DMOCF e DMOFT

DMOCF	Coeficiente	p-valor	DMOFT	Coeficiente	p-valor
r^2	96,8%		r^2	98,8%	
Constante	0,888	< 0,001*	Constante	0,892	< 0,001*
Sem TRH prévia	-0,011	0,034*	Massa magra tronco	0,023	0,007*
Sem hipotiroidismo	-0,015	0,024*	Sem fratura prévia	0,008	0,048*
Sem hipertiroidismo	0,070	< 0,001*	Sem hipertiroidismo	0,036	< 0,001*

DMOCF: densidade mineral óssea do colo fêmur; DMOFT: densidade mineral óssea do fêmur total; TRH: terapia reposição hormonal; p valor: = 0,05

Densidade Mineral Óssea do Colo do Fêmur

O não uso prévio de TRH mostrou uma alta correlação negativa nos valores mais altos de DMO ($r^2 = -0,011$). Naquelas pacientes que não tinham hipotiroidismo, a ausência desta enfermidade parece ter sido um efeito negativo nos maiores valores de DMO ($r^2 = -0,015$). Resultado contrário foi observado naquelas pacientes que não eram portadoras de hipertiroidismo, ou seja, o estado eutireoideo mostrou um efeito protetor e mantenedor nos valores de DMO.

Densidade Mineral Óssea do Fêmur Total

Para a região do fêmur total, observamos que pacientes que não apresentavam relato de fratura pessoal prévia, mostraram maiores valores de DMO. ($r^2 = 0,008$). No que se refere à ausência de hipertireoidismo, observamos efeito semelhante àquele visto na região do colo do fêmur ($r^2 = -0,036$), portanto, possível efeito protetor da massa óssea.

Tabela 2b. Modelo de Regressão Logística - DMOCT e CMOCT

DMOCT	Coeficiente	p-valor	CMOCT	Coeficiente	p-valor
r^2	96,6%		r^2	77,4%	
Constante	0,782	< 0,001*	Constante	1554	< 0,001*
Atividade física	- 0,014	0,047*	IMC	8,79	0,014*
Idade menarca	0,009	0,047*	Massa gorda total	0,022	< 0,001*
Massa gorda perna	0,037	0,016*	Massa magra perna	0,049	< 0,001*
Vitamina B12	0,098	< 0,001*	Cálcio total osso	0,044	0,045*
Sinvastatina	0,081	0,017*	Leptina	2,026	0,043*

CMOCT: conteúdo mineral ósseo do corpo total; DMOCT: densidade mineral óssea do corpo total; p valor: = 0,05; IMC: índice massa corpórea ; * estatisticamente significativa

Densidade Mineral Óssea do Corpo Total

Os valores normais de Vitamina B12 sérica mostraram uma correlação positiva na manutenção de DMO alta, exercendo, portanto, efeito protetor ($r^2 = 0,098$). O uso de sinvastatina, a massa gorda da perna e a idade da menarca (< 15 anos), também apresentaram correlação positiva com os maiores valores de DMOAL (valores de $r^2 = 0,081$; 0,037 e 0,009 respectivamente). A atividade física, avaliada pelo questionário de Baecke, mostrou uma correlação inversa com os maiores valores de DMOAL, ou seja, aquelas mulheres que tinham pouca atividade física, apresentavam menores valores de DMO.

Conteúdo Mineral Ósseo Total

As MG total, a MM da perna e o cálcio total do osso apresentaram importante correlação positiva com os maiores valores de DMOAL ($r^2 = 0,022$; $0,049$ e $0,044$ respectivamente). Observamos que as pacientes que apresentavam valores normais ou elevados de leptina possuíam maiores valores de DMO, o que sugere a sua correlação positiva com DMO ($r^2 = 2,026$). Finalmente, observamos uma correlação também positiva com os valores de IMC e DMOAL ($r^2 = 8,79$).

7.2. Comparação entre os Dois Grupos: DMOAL x GC

Os dados das características demográficas, medidas de tendência central e dispersão para a composição corpórea e densidade mineral óssea são mostrados nas Tabelas 3.

A média de idade das mulheres do GC foi de 63,21 anos (DP = 7,2); O peso, a altura e o IMC médio foram 67,8 kg (DP = 11,7), 1.53 cm (DP = 0,18) e IMC de $28,2 \text{ kg/m}^2$ (DP = 4,8) respectivamente. A média de idade da menarca foi 13,3 anos (DP = 1,8), menopausa 47,7 anos (DP = 6,2) e TEE 34,4 anos (DP = 6,5) nesta ordem (tabela 3).

Tabela 3. Estatística descritiva das características demográficas, antropométricas, medidas de tendência central e dispersão para a composição corpórea e densidade mineral óssea em mulheres pós-menopausa com idade de 45 anos ou mais - Grupo Controle

Variável	Média (DP)	Mediana	Q1 / Q3	n
Idade (anos)	63,2 (7,2)	63,0	58,0 / 68,0	172
Idade de menarca (anos)	13,3 (1,8)	13,0	12,0 / 14,3	172
Idade da menopausa (anos)	47,7 (6,2)	49,0	44,0 / 52,0	169
Antropometria				
Peso (kg)	67,8 (12,8)	66,0	59,0 / 78,0	173
Altura (cm)	153,5 (0,18)	160,0	150,0 / 160,0	175
IMC (kg/m ²)	28,2 (4,8)	27,6	25,1 / 31,2	173
Composição corpórea				
Massa gorda (g)				
Total	22,487 (8,532)	21,654	16,617 / 28,340	169
Tronco	10,947 (4,045)	10,927	8,130 / 13,535	169
Pernas	7,624 (3,357)	7,027	4,825 / 9,900	169
Massa magra (g)				
Total	42,443 (6,433)	42,591	37,940 / 46,584	169
Tronco	20,197 (3,025)	20,066	17,925 / 21,900	169
Pernas	14,122 (2,324)	14,122	12,565 / 15,743	169
Densidade mineral (g/cm ²)				
DMOCT	1,120 (0,7)	1,100	1,000 / 1,100	169
Colo fêmur	0,910 (0,7)	0,900	0,800 / 1,000	174
Fêmur total	0,930 (0,1)	0,900	0,829 / 1,000	174

GP = grupo controle; DP = desvio padrão; DMOCT = DMO corpo total; Q1 = primeiro quartil; IMC = índice de massa corpórea; Q3 = terceiro quartil

As tabelas 4a, 4b e 4c descrevem a comparação de médias entre as variáveis quantitativas nos grupos estudados. Observamos diferença estatisticamente significativa entre os 2 grupos para praticamente todas as variáveis. A exceção ocorre nas variáveis: “atividade física, idade da menopausa, número de filhos, vitamina D, estrógeno, fosfatase alcalina, cálcio e vitamina B12.

Tabela 4a. Comparação da DMOAL e GC: variáveis quantitativas

Variável	Grupo	Média	Desvio Padrão	n	IC	p-valor
Idade (anos)	Controle	63,2	7,2	172	1,1	0,001*
	DMOAL	60,1	8,3	180	1,2	
Atividade física	Controle	7,6	0,9	134	0,2	0,177
	DMOAL	7,8	1,3	147	0,2	
Idade da menarca	Controle	13,3	1,8	172	0,3	0,019*
	DMOAL	12,8	1,8	177	0,3	
Idade da menopausa	Controle	47,7	6,2	169	0,9	0,068#
	DMOAL	49,0	5,3	166	0,8	
TEE2	Controle	34,4	6,5	169	1,0	0,006*
	DMOAL	36,3	5,8	165	0,9	
IMC	Controle	28,2	4,8	173	0,7	<0,001*
	DMOAL	31,1	4,9	179	0,7	
Peso (kg)	Controle	67,8	12,8	173	1,9	<0,001*
	DMOAL	77,0	11,7	179	1,7	
Altura (m)	Controle	1,53	0,18	175	0,03	<0,001*
	DMOAL	31,1	4,9	179	0,7	
DMOCT	Controle	1,12	0,69	169	0,10	<0,001*
	DMOAL	1,22	0,05	178	0,01	

DMOAL = densidade mineral óssea alta; * p-valores: estatisticamente significativos; TEE2: tempo de exposição ao estrógeno; # p-valores: tendem a ser significativos; IMC: índice de massa corpórea; x - não foi possível aplicar a estatística; Alt: altura; DMOCT: densidade mineral óssea do corpo total

Tabela 4b. Comparação da DMOAL e GC: variáveis quantitativas

Variável	Grupo	Média	Desvio Padrão	n	IC	p-valor
Gordura perna	Controle	7,624	3,357	169	506	<0,001*
	DMOAL	9,852	3,786	178	556	
Gordura tronco	Controle	10,947	4,045	169	610	<0,001*
	DMOAL	13,707	3,946	3,786	178	
Gordura total	Controle	22,487	8,532	169	1,286	<0,001*
	DMOAL	28,172	8,394	178	1,233	
Massa magra da perna	Controle	14,122	2,324	169	350	<0,001*
	DMOAL	15,710	2,211	178	325	
Massa magra do tronco	Controle	20,197	3,025	169	456	<0,001*
	DMOAL	21,840	3,771	178	554	
Massa magra total	Controle	42,443	6,433	169	970	<0,001*
	DMOAL	46,467	6,773	178	995	
DMOCF	Controle	0,910	0,700	174	0,10	<0,001*
	DMOAL	1,13	0,110	180	0,02	
T-score	Controle	-0,99	1,0	174	0,16	<0,001*
	DMOAL	1,30	1,1	180	0,17	
Z-score	Controle	0,13	0,9	173	0,14	<0,001*
	DMOAL	1,92	0,9	177	0,14	

DMOCF – densidade mineral óssea do colo fêmur; * p-valores: estatisticamente significativos; # p-valores: tendem a ser significativos; x - não foi possível aplicar a estatística

Tabela 4c. Comparação da DMOAL e GC: variáveis quantitativas

Variável	Grupo	Média	Desvio Padrão	n	IC	p-valor
DMOFT	D. Baixa	0,93	0,16	174	0,02	<0,001*
	DMOAL	1,19	0,10	179	0,02	
T-score total	D. Baixa	-0,54	1,17	174	0,17	<0,001*
	DMOAL	1,59	0,85	179	0,12	
Z colo total	D. Baixa	0,33	1,07	173	0,16	<0,001*
	DMOAL	2,03	0,92	177	0,14	
Número de filhos	D. Baixa	3,33	2,78	165	0,42	0,841
	DMOAL	3,22	2,47	165	0,38	
Leptina	D. Baixa	25,4	17,4	166	2,7	0,006*
	DMOAL	29,7	17,6	170	2,6	
Vitamina D	D. Baixa	39,8	15,6	164	2,4	0,091#
	DMOAL	42,8	16,1	171	2,4	
FSH	D. Baixa	64,9	29,5	175	4,4	0,008*
	DMOAL	57,9	36,1	175	5,3	
E2	D. Baixa	30,2	34,3	175	5,1	0,051#
	DMOAL	35,0	44,6	175	6,6	
IFG 1	D. Baixa	180,4	81,1	172	12,1	0,248
	DMOAL	174,4	85,9	174	12,8	
Osteocalcina	D. Baixa	16,7	7,6	161	1,2	0,002*
	DMOAL	14,5	7,3	162	1,1	
CTX	D. Baixa	43,6	79,2	161	12,2	0,089#
	D. Alta	37,6	72,3	166	11,0	
Fosfatase alcalina	D. Baixa	123,7	66,4	166	10,1	0,113
	D. Alta	112,7	68,3	169	10,3	
Ca ++	D. Baixa	1,21	0,17	166	0,03	0,639
	D. Alta	1,21	0,16	168	0,02	
B12 sérica	D. Baixa	484,2	533,5	170	80,2	0,562
	D. Alta	541,7	623,4	170	93,7	

Z colo: Z-score; Ca++: cálcio iônico; T colo: T-score; B12 sérica: vitamina B12

*p-valores: estatisticamente significativos; # p-valores: tendem a ser significativos; x - não foi possível aplicar a estatística

Nas tabelas 5a, 5b e 5c descrevemos os resultados da comparação entre os grupos de DMOAL e GC, quando analisamos as variáveis qualitativas. Verificamos que existem diferenças significantes entre os percentuais dos grupos comparados, porém menos significantes do que aquelas observadas quando a comparação foi feita de acordo com as variáveis quantitativas.

Tabela 5a. Comparação da DMOAL e GC: variáveis qualitativas

Variável	Densidade Mineral Óssea Alta			Grupo Controle		
	Qualitativo	n	%	n	%	p valor
Amamentou ≥3 meses	Sim	129	71,7%	129	73,3%	0,731
	Não	21	11,7%	22	12,5%	0,809
	Não se aplica	15	8,3%	14	8,0%	0,896
Betabloqueador	Sim	30	16,7%	18	10,2%	0,075#
	Não	131	72,8%	147	83,5%	0,014*
Uso de Ca + Vit D	Sim	143	79,4%	120	68,2%	0,016*
	Não	16	8,9%	45	25,6%	<0,001*
Inibidor de ECA	Sim	51	28,3%	44	25,0%	0,477
	Não	113	62,8%	122	69,3%	0,193
B12 sérica	Alto	16	8,9%	8	4,5%	0,102
	Normal	141	78,3%	157	89,2%	0,005*
	Baixo	16	8,9%	7	4,0%	0,059#
Ca ++	Baixo	106	58,9%	111	63,1%	0,419
	Normal	61	33,9%	55	31,3%	0,595
Fosfatase alcalina sérica total	Baixo	101	56,1%	82	46,6%	0,072#
	Normal	68	37,8%	84	47,7%	0,058#
Número de filhos	Nenhum	20	11,1%	15	8,5%	0,412
	1 a 3	83	46,1%	84	47,7%	0,760
	4 a 6	46	25,6%	48	27,3%	0,713
	7 a 9	15	8,3%	14	8,0%	0,896
	10 a 12	1	0,6%	2	1,1%	0,549
	Mais que 12	0	0,0%	2	1,1%	0,152

ECA: enzima conversora de angiotensina; * p-valores: estatisticamente significativos; # p-valores: tendem a ser significativos; x - não foi possível aplicar a estatística

Tabela 5b. Comparação da DMOAL e GC: variáveis qualitativas

Variável	Densidade Mineral Óssea Alta			Grupo Controle		
	Qualitativo	n	%	n	%	p valor
IMC	Baixo peso	0	0,0%	1	0,6%	0,311
	Normal	21	11,7%	40	22,7%	0,006*
	Sobrepeso	52	28,9%	73	41,5%	0,013*
	Obeso	99	55,0%	56	31,8%	<0,001*
T. exposição E	1 a 10 anos	1	0,6%	4	2,3%	0,169
	11 a 40 anos	137	76,1%	143	81,3%	0,237
	> 40 anos	28	15,6%	24	13,6%	0,608
Vitamina D	10 a 20	4	2,2%	6	3,4%	0,498
	21 a 30	39	21,7%	37	21,0%	0,882
	> 30	128	71,1%	121	68,8%	0,627

continua ...

Variável	Densidade Mineral Óssea Alta			Grupo Controle		
	Qualitativo	n	%	n	%	p valor
Estradiol	<20 pg/mL	80	44,4%	99	56,3%	0,026*
	21 a 246 pg/mL	93	51,7%	76	43,2%	0,109
	247 a 400 pg/mL	1	0,6%	0	0,0%	0,322
FSH	Baixo	17	9,4%	11	6,3%	0,263
	Alto	158	87,8%	163	92,6%	0,125
IGF1	Baixo	4	2,2%	6	3,4%	0,498
	Normal	143	79,4%	137	77,8%	0,712
	Alto	26	14,4%	26	14,8%	0,930
Leptina	Normal	115	63,9%	101	57,4%	0,209
	Baixa	54	30,0%	65	36,9%	0,166
Osteocalcina	Normal	104	57,8%	77	43,8%	0,008*
	Alta	59	32,8%	84	47,7%	0,004*
CTX	Baixo	9	5,0%	6	3,4%	0,455
	Normal	155	86,1%	157	89,2%	0,375
Diuréticos de alça	Sim	10	5,6%	9	5,1%	0,853
	Não	162	90,0%	162	92,0%	0,500
Diabetes	Sim	50	27,8%	22	12,5%	<0,001*
	Não	117	65,0%	143	81,3%	<0,001*

IMC: índice de massa corpórea; T.exposição E2: tempo de exposição ao estrógeno ; * p-valores: estatisticamente significativos;# p-valores :tendem a ser significativos; x - não foi possível aplicar a estatística

Tabela 5c. Comparação da DMOAL e GC: variáveis qualitativas

Variável	Densidade Mineral Óssea Alta			Grupo Controle		
	Analfabeto	10	5,6%	16	9,1%	0,200
Nível de escolaridade	Sabe ler e escrever	23	12,8%	38	21,6%	0,027*
	1º grau incompleto	65	36,1%	68	38,6%	0,622
	1º grau completo	36	20,0%	22	12,5%	0,055#
Nível de escolaridade	2º grau incompleto	11	6,1%	6	3,4%	0,232
	2º grau completo	12	6,7%	9	5,1%	0,534
	Superior	3	1,7%	4	2,3%	0,680
Fumo	Sim	14	7,8%	22	12,5%	0,140
	Não	150	83,3%	143	81,3%	0,607
Fratura prévia	Sim	11	6,1%	21	11,9%	0,055#
	Não	156	86,7%	149	84,7%	0,589
	Não sabe	1	0,6%	0	0,0%	0,322
Fratura materna	Sim	11	6,1%	8	4,5%	0,511
	Não	151	83,9%	155	88,1%	0,257
	Não sabe	5	2,8%	6	3,4%	0,731
Metformin	Sim	26	14,4%	14	8,0%	0,053#
	Não	146	81,1%	158	89,8%	0,021*

continua ...

Variável	Densidade Mineral Óssea Alta			Grupo Controle		
	Analfabeto	10	5,6%	16	9,1%	0,200
Fratura paterna	Sim	2	1,1%	3	1,7%	0,634
	Não	156	86,7%	162	92,0%	0,100
	Não sabe	9	5,0%	4	2,3%	0,170
Raça	Branca	106	58,9%	98	55,7%	0,541
	Não Branca	72	40,0%	72	40,9%	0,861
Uso de sinvastatina	Sim	12	6,7%	9	5,1%	0,534
	Não	166	92,2%	166	94,3%	0,430
	Não sabe	1	0,6%	0	0,0%	0,322
TRH prévia	Sim	36	20,0%	38	21,6%	0,711
	Não	133	73,9%	131	74,4%	0,907
Tiazídicos	Sim	95	52,8%	71	40,3%	0,019*
	Não	78	43,3%	100	56,8%	0,011*

TRH: terapia de reposição hormonal; DMOCF: densidade mineral óssea do colo fêmur; * p-valores: estatisticamente significativos; # p-valores: tendem a ser significativos; x - não foi possível aplicar a estatística

Entre as variáveis qualitativas estudadas, os itens uso atual de cálcio + vitamina D, valores de vitamina B12 sérica, estradiol, osteocalcina, IMC e presença de *diabetes mellitus* foram os que mostraram diferença estatisticamente significativa entre os grupos avaliados.

Utilizando este mesmo banco de dados, estudamos as mesmas variáveis em mulheres com DMOAL, porém com valor de corte >1 desvio padrão, no que se refere à DMO de colo de fêmur e fêmur total (n = 86). A idade foi estatisticamente menor nas mulheres com DMOAL (p <0,001). O IMC foi estatisticamente maior nessas mulheres, e peso / altura foram estatisticamente maiores neste grupo (p <0,001). Resultado semelhante ocorreu na avaliação das MM e MG (p <0,05). A análise das variáveis categóricas mostrou que mulheres não fumantes, que amamentaram, com IMC elevado, menores valores de FSH, maiores valores de estradiol, portadoras de diabetes, e baixos valores de CTX apresentam percentualmente mais chance de terem DMOAL (p <0,05) – (dados não mostrados). Quando utilizamos a análise de regressão logística múltipla para avaliar os fatores preditores de DMOAL, obtivemos os seguintes resultados: as

variáveis que conjuntamente influenciaram de forma positiva a DMOAL (DMOCF e DMOFT > 1 desvio padrão) foram idade, fumo e massa magra. O aumento de 1 ano na idade reduz em 8% a chance da mulher apresentar DMOAL, o aumento de 1 kg de massa magra aumenta a chance da mulher apresentar DMOAL em 15%, e o hábito de não fumar aumenta 4,21 vezes a chance dela apresentar DMOAL (tabela 6)

Tabela 6. Resultado da regressão logística múltipla para avaliar fatores preditores de DMOAL em região de colo de fêmur e fêmur total (T >1 desvio padrão) n = 86

Variável	RR	IC (95%)		p
		Inferior	Superior	
Idade	0,92	0,88	0,96	<0,001*
Massa magra total (kg)	1,15	1,09	1,21	<0,001*
Fumante	1,00	-	-	-
Não fumante	5,21	1,42	19,04	0,013*

IC = intervalo de confiança; * valor de p - <0,05, estatisticamente significativo

Análise semelhante realizamos neste mesmo banco de dados de mulheres com DMOAL, porém com valor de corte >1,5 desvio padrão, no que se refere à DMOCF e DMOFT (n = 53). A idade foi estatisticamente menor nas mulheres com DMOAL (p <0,001) e o IMC foi estatisticamente maior nessas pacientes (p = 0,002). As medidas de massa gorda também são estatisticamente maiores neste grupo (p <0,05). Estas voluntárias apresentam maior percentual de número de filhos entre 1 a 3 (p = 0,015) e maior percentual de história de amamentação (p = 0,004) – dados não mostrados. A análise de regressão logística múltipla foi aplicada para avaliar os fatores preditores de DMOAL (T >1,5 desvios padrão).

A cada aumento de 1 ano de idade, a chance desta paciente apresentar DMOAL (colo de fêmur e fêmur total), reduz em 9%, e para cada ganho de 1 kg de massa magra, aumenta em 13% a chance da mulher apresentar DMOAL, no período pós-menopausa (tabela 7).

Tabela 7. Resultado da regressão logística múltipla para avaliar fatores preditores de DMOAL em região de colo de fêmur e fêmur total (> 1,5 desvio padrão) (n = 56)

Variável	RR	IC (95%)		p
		Inferior	Superior	
Idade	0,91	0,87	0,95	<0,001*
Massa magra total	1,13	1,07	1,19	<0,001*

IC = intervalo de confiança - * valor de p: <0,05, estatisticamente significativos

8. DISCUSSÃO

8.1. Mulheres com DMOAL

Estudamos mulheres brasileiras pós menopausa com idade igual ou superior a 45 anos, cujos valores de DMO areal foram superiores aos habitualmente encontrados em igual população. Analisamos a relação deste achado com as variáveis antropométricas, medidas de composição corpórea, valores séricos de hormônios que influenciam a massa óssea, marcadores do *turnover* ósseo, hábitos de vida, atividade física e medicamentos utilizados.

Densidade Mineral Óssea do Colo do Fêmur

A instalação da menopausa é marcada pela deficiência estrogênica com conseqüente início de uma rápida perda de massa óssea que ocorre de forma acentuada nos primeiros 5 anos. Nossos resultados mostraram uma correlação negativa com o NÃO uso prévio da TRH e manutenção de maiores valores de DMOCF. Dados do estudo HOPE⁶² sugerem que mesmo baixas doses de TRH são efetivas em prevenir a perda óssea em coluna e fêmur, ao reduzir o *turnover* ósseo. De forma interessante, podemos observar que em pacientes não portadores de hipertireoidismo, a DMOCF parece ser preservada. Por outro lado, vimos que a ausência de hipotireoidismo parece ter uma relação negativa com maiores valores de DMO. Na realidade, estes achados apontam para o efeito deletério do estado hiperdinâmico do hipertireoidismo e conseqüente maior ação reabsortiva sobre a massa óssea.

Densidade Mineral Óssea do Fêmur Total

Para a região do fêmur total, observamos que pacientes que **não** apresentavam relato de fratura pessoal prévia, mostraram maiores valores de DMO. Estes resultados podem ser extrapolados para os conceitos já bem estabelecidos da relação de perda de massa óssea e ocorrência de fraturas por fragilidade.^{63.}

Densidade Mineral Óssea do Corpo Total

Os valores normais de Vitamina B12 sérica mostraram uma correlação positiva na manutenção de DMO alta, com possível efeito protetor. A literatura ainda é contraditória no que se refere à relação de níveis séricos de vitamina B12 e DMO. Rejnmark L et al., 2008⁶⁴, sugerem que a alta ingestão de folatos, mas não de vitamina B2 ou B12 apresenta um efeito positivo sobre a massa óssea. Por outro lado, McLean RR et al., 2008⁶⁵, acreditam que baixas dose de vitamina B sérica podem ser um fator de risco para perda de massa óssea.

O uso de sinvastatina mostrou uma correlação positiva com os maiores valores de DMOAL em nosso estudo. Já existem relatos na literatura que suportam a teoria de que a sinvastatina inibe a osteoclastogênese via supressão do RANKL. Para Mundy et al., 1999⁶⁶ as estatinas parecem aumentar a formação óssea via aumento da expressão da BMP2, no osteoblasto. Por outro lado, Bone et al., 2007⁶⁷, em estudo duplo cego, placebo, controlado, avaliaram o efeito da atorvastatina na massa óssea de 626 mulheres pós menopausa, e não observaram efeito na DMO ou nos marcadores do metabolismo ósseo destas pacientes.

Conteúdo Mineral Ósseo Total

Observamos que as pacientes que apresentavam valores normais ou elevados de leptina, possuíam maiores valores de CMO, o que sugere uma correlação positiva com CMO. Associações positivas entre CMO e leptina sérica já

foram observadas em estudos anteriores²⁹ No entanto, tais relações deixaram de ser significantes quando ajustadas para valores específicos da composição corpórea, como massa gorda ou massa magra. De acordo com os autores destes estudos, a influência da leptina nos valores de CMO, ou mesmo de DMO seria mediada ou eventualmente confundida por parâmetros de composição corpórea na mulheres pós menopausa.

8.2. Comparação entre os 2 Grupos

A perda óssea relacionada à idade é resultado da diminuição da diferenciação e meia vida do OB. Esta alteração que ocorre com o envelhecimento, é marcada por um desvio da diferenciação das células da medula óssea, favorecendo ao aumento da adipogênese. Como consequência, as futuras células da linhagem osteoblástica são substituídas gradativamente, dando lugar à invasão adipocítica no interior da medula óssea^{68,69}.

Considerada o maior fator determinante da osteoporose, a idade guarda uma relação inversa com a diminuição de massa óssea⁶⁹. Nossos resultados se assemelham aos da literatura, considerando que as mulheres com DMOAL, eram mais jovens do que aquelas do GC, cujos valores de massa óssea estavam abaixo do normal. Quando comparamos as médias de medidas antropométricas e medidas de composição corpórea observamos que na amostra das mulheres com DMOAL, obtivemos valores significativamente maiores do que aqueles observados no GC. As voluntárias com DMOAL apresentaram um IMC médio de $31,1 \text{ g/cm}^2$, o que as classifica como obesas, enquanto que no GC o IMC médio foi de $28,2 \text{ g/cm}^2$, ou seja, sobrepeso de acordo com a classificação da OMS.

O cálculo do IMC agrega o peso como uma de suas referências, portanto massa magra e massa gorda. Desta forma, os efeitos exercidos pelo peso corpóreo

e IMC sobre a DMO, possivelmente serão semelhantes àqueles causados pelos componentes da composição corpórea⁷⁰⁻⁷². São vários os mecanismos associados a uma maior DMO e obesidade. O efeito positivo do peso corpóreo na massa óssea está bem estabelecido, via *stress* mecânico sobre o osso^{73,74}. Além disso, a massa gorda presente na obesidade está associada à produção de hormônios pró ativos sobre o osso, incluindo estrógenos, insulina, amilina e leptina. Em contra partida, Hsu et al. 2006⁷¹, demonstraram que a partir de um determinado peso corpóreo, uma relação negativa entre massa gorda e massa óssea pode ser encontrada. Neste mesmo estudo, os autores observaram que as fraturas não vertebrais foram significativamente mais prevalentes nos indivíduos com maiores percentuais de gordura corpórea, independente do seu peso corpóreo. De acordo com Zhao et al., 2008⁷², estudos recentes têm demonstrado que ainda não está evidente que a massa gorda exerça realmente um efeito benéfico sobre o osso. Para esses autores resultados incertos podem estar relacionados à complicada relação existente entre o tecido adiposo e o tecido ósseo. Zhao et al.⁷² sugerem que estudos longitudinais com populações maiores, desenhos definidos e análise estatística criteriosa, poderiam analisar de forma mais conclusiva a relação entre estes dois tecidos.

Nas mulheres com DMOAL da nossa amostra, os valores de MMT e MMP também foram superiores àqueles vistos no GC. Estes achados são consistentes com a maioria dos estudos, onde a MM está fortemente relacionada, de forma positiva a maiores valores de DMO⁷⁴. No entanto, de acordo com Reid⁷⁴, a massa gorda exerce uma maior importância preditora, de forma positiva na DMO em mulheres na pós menopausa. No nosso estudo analisamos os fatores determinantes de DMOAL em mulheres na pós menopausa. Portanto, embora tenhamos observado que as mulheres com DMOAL tenham mostrado maiores

valores de MMT, MGT, MMP e MGP quando comparadas ao GC, não podemos afirmar qual das duas variáveis fora mais preditora (massa magra ou massa gorda).

O efeito positivo da influência estrogênica sobre a massa óssea já está bem estabelecido. Sua ação ocorre via receptores estrogênicos presentes nos osteoblastos, osteócitos e células osteoprogenitoras. Como resultado, há um aumento da diferenciação de OB, aumento da apoptose dos OC, e efeito estimulatório sobre a síntese e mineralização óssea⁷⁵. As citocinas pró-inflamatórias, como IL1 B, IL6 e TNF- α , importantes mediadores da atividade reabsortiva dos OC, são inibidas pelo estrógeno. Desta forma, a diminuição progressiva dos níveis estrogênicos observada na peri menopausa e menopausa, é responsável por cerca de 75% da perda de massa óssea. Os nossos dados mostram que houve diferença significativa entre os dois grupos comparados, no que diz respeito ao maior tempo de exposição ao estrógeno e menor idade da menarca, favorecendo às mulheres com DMOA. A exemplo da literatura, é possível observar a relação positiva entre este hormônio e a DMO⁶². Observe-se que embora os valores de massa óssea do GC fossem inferiores ao grupo comparado, a média de DMO obtida em todos os sítios pode ser considerada normal segundo os critérios da OMS. Esses resultados sugerem que mulheres com sobrepeso, a exemplo das obesas, apresentam uma maior preservação da massa óssea. Portanto, é possível que uma menor carência estrogênica seja um dos mecanismos responsáveis por um melhor equilíbrio do *turnover* ósseo, também presente no grupo controle.⁶²

Na comparação dos resultados obtidos após a análise das variáveis qualitativas verificamos que existem diferenças significantes entre os percentuais dos grupos comparados, porém menos significantes do que aqueles observados quando comparados às variáveis quantitativas.

A princípio, o aumento da paridade deveria proporcionar a preservação da massa óssea, visto que a gravidez aumenta o peso corpóreo, ocasiona uma maior

absorção intestinal de cálcio e um período maior de exposição ao estrógeno. No entanto, parece não haver uma concordância quanto ao efeito protetor da paridade na diminuição do risco de fraturas de quadril. Da mesma forma, os estudos mostram resultados conflitantes, no que se refere ao aumento de DMO e alta paridade⁷⁶. No nosso estudo a diferença nos valores de DMO observada entre os grupos, não mostrou associação estatisticamente significativa com o número de filhos descritos para cada grupo. Para alguns autores, alta paridade pode ser definida como um número $\geq$ a 5 nascidos vivos⁷⁷. Os dados deste estudo mostram que a média de paridade foi semelhante nos 2 grupos (7 a 9 filhos por participante). De acordo com Bonny Specker (2005)^{78,79}, habitualmente os estudos caso controle, realizados em amostras pequenas não mostram este efeito protetor da paridade sobre a DMO, ao contrário de grandes estudos longitudinais. Em recente estudo longitudinal de cerca de 10.000 mulheres, Hillier TA et al. (2003)⁸⁰ encontraram diminuição de fraturas do quadril, independente dos valores de DMO em mulheres múltiparas. Neste estudo, a DMO nos sítios estudados (fêmur, coluna e antebraço) foi semelhante entre nulíparas e múltiparas, o que sugere um outro fator que não densidade mineral envolvido na diminuição do risco de fraturas.

Aspectos importantes da participação do sistema nervoso na regulação do metabolismo ósseo ainda não estão completamente elucidados.⁸¹ A presença de receptores adrenérgicos nos OB e OC bem como fibras nervosas simpáticas no tecido ósseo, suportam o novo conceito do seu envolvimento na remodelação óssea⁸².

Acredita-se que receptores β adrenérgicos tenham efeitos anabólicos e catabólicos nas células ósseas, via receptores α e β adrenérgicos respectivamente. Takeda, em 2002⁸³, mostrou que o propranolol aumenta a massa óssea em ratos, através do aumento do número de OB e do índice de formação óssea. Entretanto, Reid et al., 2005⁸⁴, não reconhece a propriedade anabólica do betabloqueador.

Neste estudo pioneiro em humanos, aqueles autores avaliaram os efeitos do propranolol no *turnover* ósseo através de marcadores de remodelação, mas não encontraram dados que confirmassem o aumento da formação óssea. Ao contrário, observaram que o propranolol diminui a atividade osteoblástica, com conseqüentes efeitos danosos no osso. Nossos dados não mostraram diferença quanto ao uso de betabloqueador entre os grupos estudados. Porém, observamos diferença estatisticamente significativa quanto ao não uso do betabloqueador, que esteve presente em maior número de mulheres do grupo controle. É possível que a inexistência da suposta ação anti reabsortiva do propranolol no GC tenha favorecido a uma leve reabsorção óssea, com conseqüente menores valores de DMO neste grupo. Em publicação mais recente, Bonnet et al., 2008⁸², observaram que baixas doses de propranolol têm ação específicas sobre receptores β adrenérgicos e podem aumentar o nível de IGF1, hormônio com propriedade pró-anabólica. Ao contrário, altas doses deste medicamento poderiam bloquear receptores α e β adrenérgicos. Avaliamos de forma qualitativa a ingestão atual de cálcio e vitamina D no último ano precedente ao início da pesquisa. Os nossos resultados mostraram diferença estatisticamente significativa entre os 2 grupos. Observe-se que no grupo de DMOAL tivemos um maior número de usuárias de cálcio e vitamina D. Por outro lado, tivemos um maior número de **não usuárias** de cálcio + vitamina D no grupo controle, que por definição inicial, é o grupo que apresentava DMO abaixo do normal. As diferenças observadas entre os 2 grupos nos sugere que o uso contínuo de cálcio e vitamina D pode ter exercido um efeito mantenedor da massa óssea nas mulheres com DMOAL. Da mesma forma, é possível extrapolarmos esse conceito, porém no sentido inverso, para as **não usuárias** de cálcio e vitamina D, cujos valores de DMO encontram-se abaixo do normal. Portanto, é provável que a menor massa óssea no GC, seja conseqüência,

entre outros fatores, da ausência do efeito anti-reabsortivo, logo, protetor, do binômio cálcio e vitamina D.

O cálcio e a vitamina D são considerados elementos de grande importância na saúde óssea. Os diversos estudos publicados têm sido unânimes em confirmar a importância deste íon no tecido ósseo, em todas as faixas etárias⁸⁵. Na infância e adolescência o cálcio influencia positivamente o pico de massa óssea, e nas idades mais avançadas auxilia na redução da perda da massa óssea, particularmente nas mulheres cuja ingestão diária é inferior a 400 mg/dia⁸⁶.

À semelhança das variáveis descritas acima, os hormônios IGF1 e leptina foram analisados e comparados entre os grupos. Não observamos diferenças significantes entre os valores de IGF1, porém foi possível descrever uma tendência a valores menores no GC. O processo de remodelação que ocorre no micro ambiente ósseo, é marcado por uma diversidade de eventos hormonais e não hormonais de natureza complexa, com um objetivo de alcançar e manter o equilíbrio. O IGF1 apresenta propriedades anabólicas, quando, a exemplo do PTH, estimula a formação de ossos cortical e trabecular.⁸⁷ Além disso, apresenta também uma suposta atividade catabólica. Essa função reabsortiva atribuída ao IGF1, ocorre quando este hormônio estimula a expressão do RANKL naqueles OC que possuem receptores para o IGF1, o que já foi observado em modelo animal.^{88,89}

Uma característica importante do IGF1 é que quase 80% deste hormônio circula junto à proteína 3 ligadora de IGF1 (IGFBP-3). Seus valores apresentam uma relação inversa com a idade, e direta com a queda do estrógeno. Comportamento semelhante é observado nos valores de IGF1-3. Alguns estudos têm observado maiores valores de DMO associados a valores maiores de IGF1⁸⁹. Uma das limitações do nosso estudo deve-se ao fato de não termos quantificado IGFBP-3 sérico. É possível que os valores de IGF1 encontrados na nossa amostra

tenham sido subestimados, levando-se em conta que apenas 20% do hormônio encontra-se na forma livre.

A leptina circulante é importante no controle do peso corpóreo, metabolismo da glicose e regulação da massa óssea^{29,30}. Embora considerada um hormônio anti obesidade, a maioria dos obesos apresenta valores elevados de leptina, o que sugere uma resistência a este hormônio nestes indivíduos. A relação dos seus níveis séricos e DMO ainda é motivo de controvérsias, particularmente nas mulheres pós-menopausa. São vários os estudos que associam de forma positiva, níveis altos de leptina e DMO. No entanto, estes mesmos estudos mostram que esta associação perde a significância quando o modelo é ajustado pelo IMC.

Nossos resultados não mostraram diferenças significantes nos valores de leptina entre os dois grupos quando a análise realizada utilizou variáveis qualitativas. Porém, na comparação de médias das variáveis quantitativas, obtivemos uma diferença com significância estatística, com valores mais elevados de leptina no grupo com DMOA. Quando usamos a leptina sérica como variável qualitativa, a interpretação dos seus valores absolutos tinha como referência o IMC. Portanto, a leptina seria considerada normal ou alta, a depender do critério obesidade e não obesidade. Embora os dois grupos fossem diferentes quanto à media dos valores de IMC de forma significativa, a classificação das pacientes em obesidade e não obesidade, provavelmente permitiu a homogeneização dos 2 grupos, visto que interpretados isolamente, o grupo de DMOA era obeso e o GC apresentava sobrepeso (situações muito próximas).

9. RESUMO DOS RESULTADOS

9.1. Fatores Positivos Possivelmente Determinantes de DMOAL

- Uso prévio de TRH
- Manutenção de estado eutiroideo
- Uso atual de sinvastatina
- Níveis séricos de vitamina B12 dentro da normalidade ou elevados
- Níveis séricos de leptina normais ou elevados

9.2. Diferenças Observadas entre o Grupo DMOAL e GC

- **Variáveis quantitativas**

- Idade
- Idade da menarca
- TEE2
- IMC
- MM
- MG
- FSH baixo

- **Variáveis qualitativas**

- Uso de cálcio e vitamina D
- Valores séricos de vitamina B12
- Níveis de estradiol
- IMC

10. COMENTÁRIOS E CONCLUSÕES

A classificação da densidade mineral óssea de acordo com os critérios da OMS nos direciona a dificuldades conceituais. Que parâmetros devemos usar para considerar valores de DMO acima do normal ou mesmo elevada? A simples observação de tais pacientes, nos remete à identificação de possíveis mecanismos envolvidos na proteção e manutenção de massa óssea. Os nossos resultados parecem confirmar os importantes efeitos positivos da terapia hormonal sobre a DMO. Resgatamos a possibilidade de uma antiga intervenção, porém criteriosa, utilizando o conceito atual de janela de oportunidade.

A relação do estado eutiroideo com a proteção da massa óssea reafirma que conceitos antigos permanecem. O uso de drogas reguladoras de lipídeos como a sinvastatina, ou mesmo a manutenção de níveis séricos de vitamina B12 dentro da normalidade, parecem ser mais uma alternativa no sentido de poupar a massa óssea. Hormônios como a leptina, IGF1, grelina e a adiponectina, podem dar lugar a novas possibilidades terapêuticas no combate à osteoporose. Medidas simples como a suplementação com cálcio e vitamina D, abolição do fumo ou mesmo atividades físicas podem ser velhos novos aliados.

Este estudo não pretende diagnosticar patologias raras ou sua associação com valores muito elevados de DMO. Nosso projeto tem como propósito, buscar medidas simples, porém efetivas na prevenção da osteoporose, e particularmente, no incremento e manutenção da massa óssea.

REFERÊNCIAS

1. Ray NF, Chan JK, Thamer M, Melton LJ 3rd. Medical expenditures for the treatment of osteoporotic fractures in the United States in 1995: report from the National Osteoporosis Foundation. *J Bone Miner Res.* 1997;12:24-35.
2. Cummings SR, Melton LJ. Epidemiology and outcomes of osteoporotic fractures. *Lancet.* 2002;359:1761-7.
3. Leibson CL, Tosteson AN, Gabriel SE, Ransom JE, Melton LJ. Mortality, disability, and nursing home use for persons with and without hip fracture: a population-based study¹. *J Am Geriatr Soc.* 2002;50:1644-50.
4. Extraído de: <http://www.saude.df.gov.br/005/00502001>.
5. Danowisk J. Epidemiologia e custos da osteoporose em homens e mulheres. Programa de Educação Continuada em Osteoporose da SBR - Módulo 1;4-20; 2007. In: <http://www.saude.df.gov.br/005/00502001>.
6. Pinheiro MM, Castro CM, Szejnfeld VL. Low femoral bone mineral density and quantitative ultrasound are risk factors for new osteoporotic fracture and total and cardiovascular. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2006;61:196-203.
7. National Institutes of Health: NIH Consensus Panel Address Osteoporosis Prevention, Diagnosis, and Therapy. In: http://www.niams.nih.gov/ne/press/2000/03_29.htm, acessado em 25/11/02.
8. Seeman E. Hip fractures and osteoporosis in men. *Med J Aust.* 1997;167:404-405.

9. WHO. Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis Technical Report Series No. 843. WHO, Geneva, Switzerland, 1994.
10. Zerbini CAF, Pippa MGB, Eis SR, Lazaretti-Castro M, Mota Neto H, Tourinho TF, Mendonça LMC, Plapler PG, Mello NR, Pereira RMR, Borges JLC, Souza ACA. Densitometria Clínica – Posições Oficiais 2006. *Rev Bras Reumatol*. 2007;47:25-33.
11. Binkley N, Bilezikian JP, Kendler DL, Leib ES, Lewiecki EM, Petak SM; International Society for Clinical Densitometry. Official positions of the International Society for Clinical Densitometry and Executive Summary of the 2005 Position Development Conference. *J Clin Densitom*. 2006;9:e4-14.
12. National Osteoporosis Foundation. 2003 Physician's Guide to Prevention and Treatment of Osteoporosis. National Osteoporosis Foundation, Washington, DC. Available at: www.nof.org, 2003.
13. Kocher MS, Kasser JR. Osteopetrosis. *Am J Orthop*. 2003;32:222-8.
14. Seeman E, Hopper JL, Bach LA, Cooper ME, Parkinson E, McKay J, Jeremus G. Reduced bone mass in daughters of women with osteoarthritis. *N Engl J Med*. 1989;320:554-8,.
15. Fox KM, Cummings SR, Powell-Threets K, Stone KI. Family history and risk of osteoporosis fracture. Study of Osteoporosis Fractures Research Group. *Osteoporosis Int*. 1998;8:557-62.
16. Seeman E, Delmas PD. Bone quality--the material and structural basis of bone strength and fragility. *N Engl J Med*. 2006;354:2250-61.

17. Hofbauer LC, Schoppet M. Clinical Implications of the Osteoprotegerin / RANKL / RANK System for Bone and Vascular Diseases. *JAMA*. 2004;292:490-5.
18. NIH Consensus Development Panel on Osteoporosis Prevention, Diagnosis, and Therapy, March 7-29, 2000: highlights of the conference. *South Med J*. 2001;94:569-73.
19. Recker RR, Davies KM, Hindrs SM, Heaney RP, Stegman MR, Kimmel DB. Bone gain in young adult women. *JAMA* 1992;268: 2403-8.
20. Torgerson DJ, Thomas RE, Reid DM. Mothers and daughters' menopausal ages: is there a link? *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 1997;74:63-6.
21. Heaney RP. Pathogenesis of postmenopausal osteoporosis. In: Favus MJ. *Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism*. 3rd ed. Chicago: Lippincott-Raven; 1996:252-4.
22. Coulam CB, Adamson SC, Annegers JF. Incidence of premature ovarian failure. *Obstet Gynecol*. 1986; 67:604-6.
23. Sowers M, Kshirsagar A, Crutchfield MM, Updike S. Body composition, age and femoral bone mass of young adult women. *Ann Epidemiol*. 1991;1:245-54.
24. Sowers MF, Kshirsagar A, Crutchfield MM, Updike S. Joint influence of fat and lean body composition compartments on femoral bone mineral density in premenopausal women. *Am J Epidemiol*. 1992;136:257-65.
25. Reid IR, Plank LD, Evans MC. Fat mass is an important determinant of whole body bone density in premenopausal women but not in men. *J Clin Endocrinol Metab*. 1992;75:779-82.

26. Harris SS, Dallal G, Dawson-Hughes B. Influence of body weight on rates of change in bone density of the spine, hip and radius in postmenopausal women. *Calcif Tiss Int.* 1992;50: 19-23.
27. Glauber HS, Volmer WM, Nevitt MC, Ensrud KE, Orwoll ES. Body weight versus body fat distribution, adiposity, and frame size as predictors of bone density. *J Clin Endocrinol Metab.* 1995;80:1118-23.
28. Slemenda CW. Body composition and skeletal density – Mechanical loading or something more? *J Clin Endocrinol Metab.* 1995;80:1761-3.
29. Cirmanová V, Bayer M, Stárka L, Zajíčková K. The effect of leptin on bone: an evolving concept of action. *Physiol Res.* 2008;57(Suppl 1):S143-51.
30. Jürimäe J, Jürimäe T, Leppik A, Kums T. The influence of ghrelin, adiponectin, and leptin on bone mineral density in healthy postmenopausal women. *J Bone Miner Metab.* 2008;26:618-23.
31. Yilmazi M, Keleş I, Aydın G, Orkun S, Bayram M, Sevinc FC, Kisa U, Yetkin I. Plasma leptin concentrations in postmenopausal women with osteoporosis. *Endocr Res.* 2005;31:133-8.
32. Bagi CM, DeLeon E, Brommage R, Rosen D, Sommer A. Treatment of ovariectomized rats with the complex of rhIGFI/IGFBP-3 increases cortical and cancellous bone mass and improves structure in the femoral neck. *Calcif Tissue Int.* 1995;57:40-46.
33. Bagi CM, DeLeon E, Brommage R, Adams S, Rosen D, Sommer A. Systemic administration of rhIGF-I or rhIGF-I/ IGFBP-3 increases cortical bone and lean body mass in ovariectomized rats. *Bone.* 1995;16(4 Suppl):263S-269S.

34. Bikle DD, Harris J, Halloran BP, Currier PA, Tanner S, Morey-Holton E. The molecular response of bone to growth hormone during skeletal unloading: Regional differences. *Endocrinology*. 1995;136:2099-109.
35. Melmed S. Insulin-like growth factor I - a prototypic peripheral- paracrine hormone? *Endocrinology*. 1999;140:3879-80.
36. Playford MP, Bicknell D, Bodmer WF, Macaulay VM. Insulin-like growth factor 1 regulates the location, stability, and transcriptional activity of beta-catenin. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2000;97:12103-8
37. Mochizuki H, Hakeda Y, Wakatsuki N, Usui N, Akashi S, Sato T, Tanaka K, Kumegawa M. Insulin-like growth factor-I supports formation and activation of osteoclasts. *Endocrinology*. 1992;131:1075-80.
38. Niu T, Rosen CJ. The insulin-like growth factor-I gene and osteoporosis: A critical appraisal. *Gene*. 2005;361:38–56.
39. Johnson ML, Gong G, Kimberling W, Recker SM, Kimmel DB, Recker RR. Linkage of a gene causing high bone mass to human chromosome 11 (11q12-13). *Am J Hum Genet*. 1997;60:1326-32.
40. Levasseur R, Lacombe de Vernejoul MC. LRP5 mutations in osteoporosis-pseudoglioma syndrome and high-bone-mass disorders. *Joint Bone Spine*. 2005;72:207-14.
41. Van Wesenbeeck L, Cleiren E, Gram J, Beals RK, Bénichou O, Scopelliti D, Key L, Renton T, Bartels C, Gong Y, Warman ML, De Vernejoul MC, Bollerslev J, Van Hul W. Six novel missense mutations in the LDL receptor-related protein

- 5 (*LRP5*) gene in different conditions with an increased bone density. *Am J Hum Genet.* 2003;72:763-71.
42. Johnson ML. The high bone mass family – the role of Wnt/Lrp5 signaling in the regulation of bone mass. *J Musculoskelet Neuron Interact.* 2004;4:135-138.
 43. Baldock PA, Eisman JA. Genetic determinants of bone mass. *Curr Opin Rheumatol.* 2004;6:450-456.
 44. Sims AM, Shephard N, Carter K, Doan T, Dowling A, Duncan EL, Eisman J, Jones G, Nicholson G, Prince R, Seeman E, Thomas G, Wass JA, Brown MA. Genetic analyses in a sample of individuals with high or low BMD shows association with multiple Wnt pathway genes. *J Bone Miner Res.* 2008;23:499-506.
 45. Ferrari SL, Deutsch S, Choudhury U, Chevalley T, Bonjour JP, Dermitzakis ET, Rizzoli R, Antonarakis SE. Polymorphisms in the low-density lipoprotein receptor-related protein 5 (*LRP5*) gene are associated with variation in vertebral bone mass, vertebral bone size, and stature in whites. *Am J Hum Genet.* 2004;74:866-75.
 46. Koller DL, Ichikawa S, Johnson ML, Lai D, Xuei X, Edenberg HJ, Conneally PM, Hui SL, Johnston CC, Peacock M, Foroud T, Econs MJ. Contribution of the *LRP5* gene to normal variation in peak BMD in women. *J Bone Miner Res.* 2005;20:75-80.
 47. Crabbe P, Balemans W, Willaert A, van Pottelbergh I, Cleiren E, Coucke PJ, Ai M, Goemaere S, van Hul W, de Paepe A, Kaufman JM. Missense mutations in *LRP5* are not a common cause of idiopathic osteoporosis in adult men. *J Bone Miner Res.* 2005;20:1951-9.

48. Barros ER, Dias da Silva MR, Kunii IS, Hauache OM, Lazaretti-Castro M. A novel mutation in the LRP5 gene is associated with osteoporosis-pseudoglioma syndrome. *Osteoporos Int.* 2007;18:1017–8.
49. Ichikawa S, Koller DL, Peacock M, Johnson ML, Lai D, Hui SL, Johnston CC, Foroud TM, Econs MJ. Polymorphisms in the estrogen receptor beta (ESR2) gene are associated with bone mineral density in Caucasian men and women. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90:5921-7.
50. Robling AG, Bellido T, Turner CH. Mechanical stimulation in vivo reduces osteocyte expression of sclerostin. *J Musculoskelet Neuronal Interact.* 2006;6:354.
51. Krishnan V, Bryant HU, MacDougald OA. Regulation of bone mass by Wnt signaling. *J Clin Invest.* 2006;116:1202–9.
52. Lecka-Czernik B, Moerman EJ, Grant DF, Lehmann JM, Manolagas SC, Jilka RL. Divergent effects of selective peroxisome proliferator-activated receptor-gamma ligands on adipocyte versus osteoblast differentiation. *Endocrinology.* 2002;143:2376-84.
53. Bonnick SL, Lewis LA. *Bone densitometry for technologists.* 2nd ed. New Jersey, Humana Press, 2006.
54. Looker AC, Orwoll ES, Johnston CC Jr, Lindsay RL, Wahner HW, Dunn WL, Calvo MS, Harris TB, Heyse SP. Prevalence of low femoral bone density in older U.S. women from NHANES III. *J Bone Miner Res.* 1995;10:175-7.

55. Whyte MP. High Bone Mass Disease. In: Kleerekoper M, Sirus E, McClung M (eds.). *The Bone and Mineral Manual: a Practical Guide*, 2nd ed. San Diego: Academic Press, 2004.
56. Reid IR, Evans MC, Ames R, Wattie DJ. The influence of osteophytes and aortic calcification on spinal mineral density in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab.* 1991;72:1372-4.
57. Chavassieux P, Seeman E, Delmas PD. Insights into material and structural basis of bone fragility from diseases associated with fractures: how determinants of the biomechanical properties of bone are compromised by disease. *Endocr Rev.* 2007;28:151-64.
58. Simberg N, Tiitinen A, Silfvast A, Viinikka L, Ylikorkala O. High bone density in hyperandrogenic women: effect of gonadotropin-releasing hormone agonist alone or in conjunction with estrogen-progestin replacement. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996;81:646-651.
59. Zmuda JM, Cauley JA, Ljung BM, Bauer DC, Cummings SR, Kuller LH, Study of Osteoporotic Fractures Research Group. Bone mass and breast cancer risk in older women: differences by stage at diagnosis. *J Natl Cancer Inst.* 2001;93:930-6.
60. Pesonen J, Sirola J, Tuppurainen M, Jurvelin J, Alhava E, Honkanen R, Kröger H. High bone mineral density among perimenopausal women. *Osteoporos Int.* 2005;16:1899-906.
61. Florindo AA, Latorre MRDO, Jaime PC, Tanaka T, Pippa MG, Zerbini CAF. Past and present habitual physical and its relationship with bone mineral density in

men aged 50 years and older in Brazil. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2002;57:M654-7.

62. Lindsay R, Gallagher JC, Kleerekoper M, Pickar JH. Effect of lower doses of conjugated equine estrogens with and without medroxyprogesterone acetate on bone in early postmenopausal women. *JAMA*. 2002;287:2668-76.
63. Kanis JA, Oden A, Johnell O, Johansson H, De Laet C, Brown J, Burckhardt P, Cooper C, Christiansen C, Cummings S, Eisman JA, Glüer C, Goltzman D, Hans D, Krieg MA, La Croix A, McCloskey E, Mellstrom D, Melton LJ 3rd, Pols H, Reeve J, Sanders K, Schott AM, Silman A, Torgerson D, van Staa T, Watts NB, Yoshimura N. The use of clinical risk factors enhances the performance of BMD in the prediction of hip and osteoporotic fractures in men and women 1. *Osteoporos Int*. 2007;18:1033-46.
64. Rejnmark L, Vestergaard P, Hermann AP, Brot C, Eiken P, Mosekilde L. Dietary intake of folate, but not vitamin B2 or B12, is associated with increased bone mineral density 5 years after the menopause: results from a 10-year follow-up study in early postmenopausal women. *Calcif Tissue Int*. 2008;82:1-11.
65. McLean RR, Jacques PF, Selhub J, Fredman L, Tucker KL, Samelson EJ, Kiel DP, Cupples LA, Hannan MT. Plasma B vitamins, homocysteine, and their relation with bone loss and hip fracture in elderly men and women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008;93:2206-12.
66. Mundy G, Garrett R, Harris S, Chan J, Chen D, Rossini G, Boyce B, Zhao M, Gutierrez G. Stimulation of bone formation in vitro and in rodents by statins. *Science*. 1999;286:1946-9.

67. Bone HG, Kiel DP, Lindsay RS, Lewiecki EM, Bolognese MA, Leary ET, Lowe W, McClung MR. Effects of atorvastatin on bone in postmenopausal women with dyslipidemia: a double-blind, placebo-controlled, dose-ranging trial. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92:4671-7.
68. Justesen J, Stenderup K, Ebbesen EN, Mosekilde L, Steiniche T, Kassem M. Adipocyte tissue volume in bone marrow is increased with aging and in patients with osteoporosis. *Biogerontology.* 2001;2:165-71.
69. Chan GK, Duque G. Age-related bone loss: old bone, new facts. *Gerontology.* 2002;48:62-71.
70. De Laet C, Kanis JA, Oden A, Johanson H, Johnell O, Delmas P, Eisman JA, Kroger H, Fujiwara S, Garnero P, McCloskey EV, Mellstrom D, Melton 3rd LJ, Meunier PJ, Pols HA, Reeve J, Silman A, Tenenhouse A. Body mass index as a predictor of fracture risk: a meta-analysis. *Osteoporos Int.* 2005;16:1330–8.
71. Hsu YH, Venners SA, Terwedow HA, Feng Y, Niu T, Li Z, Laird N, Brain JD, Cummings SR, Bouxsein ML, Rosen CJ, Xu X. Relation of body composition, fat mass, and serum lipids to osteoporotic fractures and bone mineral density in Chinese men and women. *Am J Clin Nutr.* 2006;83:146–54.
72. Zhao LJ, Jiang H, Papasian CJ, Maulik D, Drees B, Hamilton J, Deng HW. Correlation of obesity and osteoporosis: effect of fat mass on the determination of osteoporosis. *J Bone Miner Res.* 2008;23:17-29.
73. Hughes VA, Frontera WR, Dallal GE, Lutz KJ, Fisher EC, Evans WJ. Muscle strength and body composition: associations with bone density in older subjects. *Med Sci Sports Exerc.* 1995;7:967-74.

74. Reid IR. Relationships among body mass, its components, and bone. *Bone*. 2002;31:547-55.
75. Okazaki R, Inoue D, Shibata M, Saika M, Kido S, Ooka H, Tomiyama H, Sakamoto Y, Matsumoto T. Estrogen promotes early osteoblast differentiation and inhibits adipocyte differentiation in mouse bone marrow stromal cell lines that express estrogen receptor (ER) alpha or beta. *Endocrinology*. 2002;143:2349-56.
76. Hoffman S, Grisso JA, Kelsey JL, Gammon DM, O'Brien LA. () Parity, lactation and hip fracture. *Osteoporos Int*. 1993;3:171-6.
77. Michaelsson K, Baron JA, Farahmand BY, Ljunghall S. Influence of parity and lactation on hip fracture risk. *Am J Epidemiol*. 2001;153:1166-72.
78. Specker B, Binkley T. High parity is associated with increased bone size and strength. High parity is associated with increased bone size and strength. *Osteoporos Int*. 2005;16:1969-74.
79. Gur A, Nas K, Cevik R, Sarac AJ, Ataoglu S, Karakoc M. Influence of number of pregnancies on bone mineral density in postmenopausal women of different age groups. *J Bone Miner Metab*. 2003;21:234-41.
80. Hillier TA, Rizzo JH, Pedula KL, Stone KL, Cauley JA, Bauer DC, Cummings SR. Nulliparity and fracture risk in older women: the Study of Osteoporotic Fractures. *J Bone Miner Res*. 2003;18:893-9.
81. Togari A. Adrenergic regulation of bone metabolism: possible involvement of sympathetic innervation of osteoblastic and osteoclastic cells. *Microsc Res Tech*. 2002;58:77-84.

82. Bonnet N, Benhamou CL, Malaval L, Goncalves C, Vico L, Eder V, Pichon C, Courteix D. Low dose beta-blocker prevents ovariectomy-induced bone loss in rats without affecting heart functions. *J Cell Physiol.* 2008;217:819-2.
83. Takeda S, Eleftheriou F, Levasseur R, Liu X, Zhao L, Parker KL, Armstrong D, Ducy P, Karsenty G. Leptin regulates bone formation via the sympathetic nervous system. *Cell.* 2002;111:305-17.
84. Reid IR, Lucas J, Wattie D, Horne A, Bolland M, Gamble GD, Davidson JS, Grey AB. Effects of a beta-blocker on bone turnover in normal postmenopausal women: a randomized controlled trial. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90:5212-6.
85. Johnston CC Jr, Miller JZ, Slemenda CW, Reister TK, Hui S, Christian JC, Peacock M. Calcium supplementation and increases in bone mineral density in children. *N Engl J Med.* 1992;327:82-7.
86. Lanham-New SA. Importance of calcium, vitamin D and vitamin K for osteoporosis prevention and treatment. *Proc Nutr Soc.* 2008;67:163-76.
87. Hill PA, Reynolds JJ, Meikle MC. Osteoblasts mediate insulin-like growth factor-I and -II stimulation of osteoclast formation and function. *Endocrinology* 1995;136:124-131.
88. Wang Y, Nishida S, Elalieh HZ, Long RK, Halloran BP, Bikle DD. Role of IGF-I signaling in regulating osteoclastogenesis. *J Bone Miner Res.* 2006;21:1350-8.
89. Yakar S, Rosen CJ, Beamer WG, Ackert-Bicknell CL, Wu Y, Liu JL, Ooi GT, Setser J, Frystyk J, Boisclair YR, Le Roith D. Circulating levels of IGF-1 directly regulate bone growth and density. *J Clin Invest.* 2002;110:771-81.

ANEXOS

ANEXO I

DENSIDADE MINERAL ÓSSEA ALTA EM MULHERES PÓS MENOPAUSA:

FATORES DETERMINANTES

Data: ____/____/____

NOME: _____

RG - PAM: _____

ENDEREÇO: _____

TELEFONE: _____ CEP: _____

RAÇA: B (1) Pt (2) Pd (3) Am (4) Outros (5)

Data de Nascimento: ____/____/____

Naturalidade: _____ Código: _____

Estado civil: () solteiro (1) () casado (2) () separado (3) () viúvo (4)

Profissão: _____ Código: _____

se aposentado:

a) motivo da aposentadoria: () tempo de serviço(1) () invalidez(2) () idade(3)
() especial(4)

b) há quanto tempo: _____ anos

c) atividade anterior: _____ Código: _____

Escolaridade:

() analfabeto(1) () sabe ler e escrever(2) () 1º grau incompleto(3)

() 1º grau completo(4) () 2º grau incompleto(5) () 2º grau completo(6)

() superior (7)

Antecedentes mórbidos

– endócrinos:

hipotireoidismo: sim(1) não(2) não sabe(3)

hipertireoidismo: sim(1) não(2) não sabe(3)

hiperparatireoidismo: sim(1) não(2) não sabe(3)

diabetes mellitus: sim(1) não(2) não sabe(3)

- gastrointestinal:

doença hepática: sim(1) não(2) não sabe(3)

gastrectomia: sim(1) não(2) não sabe(3)

colite: sim(1) não(2) não sabe(3)

outras (qual): _____

- calculose renal: sim(1) não(2) não sabe(3)

- mieloma múltiplo: sim(1) não(2) não sabe(3)

- outras neoplasias (qual):

- amenorréia: () sim () não () quanto tempo

- ooforectomia: () sim () não () quanto tempo

- histerectomia: () sim () não () não sabe

- terapia de reposição hormonal: () sim () não () não sabe

se usou, quanto tempo: _____

- menarca: _____ anos

- número de filhos: _____ amamentou quantos: _____ quanto tempo? _____

Menopausa: () sim Idade _____ () não

OBS: Início dos fogachos _____

-Tempo de exposição ao estrógeno:

- Medicamentos:

- corticosteróides: sim(1) não(2) algum dia usou(3) não sabe(9)

dose: _____ tempo de uso: _____

- anticonvulsivantes: sim(1) não(2) algum dia usou(3) não sabe(9)

dose: tempo de uso:

- anti-ácidos: sim(1) não(2) algum dia usou(3) não sabe(9)

dose: tempo de uso:

- diuréticos tiazídicos sim(1) não(2) algum dia usou(3) não sabe(9)

dose: tempo de uso:

- diuréticos não tiazídicos: sim(1) não(2) algum dia usou(3) não sabe(9)

dose: tempo de uso:

- suplemento de cálcio: sim(1) não(2) algum dia usou(3) não sabe(9)

dose: _____ tempo de uso: _____

Já teve fratura: idade: _____ (anos) quantas vezes? _____

não traumática(1) traumática(2) não(3) não sabe(9)

radio(1) vértebra(2) fêmur(3) outro: _____ Código: _____

Mãe com fratura após 50 anos:

não traumática(1) traumática(2) não(3) não sabe(9)

radio(1) vértebra(2) fêmur(3) outro: _____ Código: _____

Pai com fratura após 50 anos:

não traumática(1) traumática(2) não(3) não sabe(9)

radio(1) vértebra(2) fêmur(3) outro: _____ Código: _____

Fuma atualmente? sim(1) não(2)

se sim: quantos cigarros por dia: _____

há quanto tempo: _____

tipo de fumo: cigarro sem filtro(1) cigarro com filtro(2) cachimbo(3) charuto(4)
 outro(5)

Parou de fumar? sim(1) não(2)

há quanto tempo? _____

fumou por quanto tempo? _____

fumava quantos cigarros por dia? _____

Anexo II

QUESTIONÁRIO DE ATIVIDADE FÍSICA HABITUAL

Por favor, circule a resposta apropriada para cada questão:

Nos últimos 12 meses:

1)	Qual tem sido sua principal ocupação?	1	3	5		
2)	No trabalho eu sento:
nunca / raramente / algumas vezes / freqüentemente / sempre	1	2	3	4	5
3)	No trabalho eu fico em pé:
nunca / raramente / algumas vezes / freqüentemente / sempre	1	2	3	4	5
4)	No trabalho eu ando:
nunca / raramente / algumas vezes / freqüentemente / sempre	1	2	3	4	5
5)	No trabalho eu carrego carga pesada:
nunca / raramente / algumas vezes / freqüentemente / sempre	1	2	3	4	5
6)	Após o trabalho eu estou cansado:
muito freqüentemente / freqüentemente / algumas vezes / raramente / nunca	5	4	3	2	1
7)	No trabalho eu suco:
muito freqüentemente / freqüentemente / algumas vezes / raramente / nunca	5	4	3	2	1
8)	Em comparação com outros da minha idade eu penso que meu trabalho é fisicamente:
muito mais pesado/ mais pesado / tão pesado quanto / mais leve / muito mais leve	5	4	3	2	1

9)	Você pratica ou praticou esporte ou exercício físico nos últimos 12 meses: sim / não Qual esporte ou exercício físico você pratica ou praticou mais freqüentemente?	1	3	5		
	<input type="text"/>					
	- quantas horas por semana?	<1	1<2	2<3	3-4	>4
	<input type="text"/>					
	- quantos meses por ano?	<1	1-3	4-6	7-9	>9
	<input type="text"/>					
	Se você faz um fez segundo esporte ou exercício físico, qual o tipo?:	1	3	5		
	<input type="text"/>					
	- quantas horas por semana?	<1	1<2	2<3	3-4	>4
	<input type="text"/>					
	- quantos meses por ano?	<1	1-3	4-6	7-9	>9
	<input type="text"/>					
10)	Em comparação com outros da minha idade eu penso que minha atividade física durante as horas de lazer é: muito maior / maior / a mesma / menor / muito menor	5	4	3	2	1
11)	Durante as horas de lazer eu suo: muito freqüentemente / freqüentemente / algumas vezes / raramente / nunca	5	4	3	2	1
12)	Durante as horas de lazer eu pratico esporte ou exercício físico: nunca / raramente / algumas vezes / freqüentemente / muito freqüentemente	1	2	3	4	5
13)	Durante as horas de lazer eu vejo televisão: nunca / raramente / algumas vezes / freqüentemente / muito freqüentemente	1	2	3	4	5
14)	Durante as horas de lazer eu ando: nunca / raramente / algumas vezes / freqüentemente / muito freqüentemente	1	2	3	4	5
15)	Durante as horas de lazer eu ando de bicicleta: nunca / raramente / algumas vezes / freqüentemente / muito freqüentemente	1	2	3	4	5
16)	Durante quantos minutos por dia você anda a pé ou de bicicleta indo e voltando do trabalho, escola ou compras?	1	2	3	4	5
	<5 / 5-15 / 16-30 / 31-45 / >45	Total em minutos		<input type="text"/>		

Anexo III

Fórmulas para cálculo dos escores do questionário Baecke de AFH

ATIVIDADES FÍSICAS OCUPACIONAIS (AFO)	
$\text{Escore de AFO} = \frac{\text{questão1} + \text{questão2} + \text{questão3} + \text{questão4} + \text{questão5} + \text{questão6} + \text{questão7} + \text{questão8}}{8}$	
Cálculo da primeira questão referente ao tipo de ocupação:	
<p>♦ Intensidade (tipo de ocupação)=1 para profissões com gasto energético leve ou 3 para profissões com gasto energético moderado ou 5 para profissões com gasto energético vigoroso (determinado pela resposta do tipo de ocupação: o gasto energético da profissão deve ser conferido no compêndio de atividades físicas de Ainsworth)</p>	
EXERCÍCIOS FÍSICOS NO LAZER (EFL)	
Cálculo da questão 9 referente a prática de esportes/exercícios físicos:	
<ul style="list-style-type: none"> Intensidade (tipo de modalidade)=0,76 para modalidades com gasto energético leve ou 1,26 para modalidades com gasto energético moderado ou 1,76 para modalidades com gasto energético vigoroso (determinado pela resposta do tipo de modalidade: o gasto energético da modalidade deve ser conferido no compêndio de atividades físicas de Ainsworth) Tempo (horas por semana)=0,5 para menos de uma hora por semana ou 1,5 entre maior que uma hora e menor que duas horas por semana ou 2,5 para maior que duas horas e menor que três horas por semana ou 3,5 para maior que três e até quatro horas por semana ou 4,5 para maior que quatro horas por semana (determinado pela resposta das horas por semana de prática) Proporção (meses por ano)=0,04 para menor que um mês ou 0,17 entre um a três meses ou 0,42 entre quatro a seis meses ou 0,67 entre sete a nove meses ou 0,92 para maior que nove meses (determinado pela resposta dos meses por ano de prática) 	
<p>♦ Para o cálculo desta questão, os valores devem ser multiplicados e somados:</p> $[\text{Modalidade 1}=(\text{Intensidade} \times \text{Tempo} \times \text{Proporção}) + \text{Modalidade 2}=(\text{Intensidade} \times \text{Tempo} \times \text{Proporção})]$	
<p>♦ Após o resultado deste cálculo, para o valor final da questão 9, deverá ser estipulado um escore de 0 a 5 de acordo com os critérios especificados abaixo:</p> $[0 \text{ (sem exercício físico)}=1/ \text{ entre } 0,01 \text{ até } <4=2/ \text{ entre } 4 \text{ até } <8=3/ \text{ entre } 8 \text{ até } <12=4/ \geq 12,00=5]$	
Os escores das questões dois a quatro serão obtidos de acordo com as respostas das escalas de Likert	
O escore final de EFL deverá ser obtido de acordo com a fórmula especificada abaixo:	
$\text{Escore de EFL} = \frac{\text{questão9} + \text{questão10} + \text{questão11} + \text{questão12}}{4}$	
ATIVIDADES FÍSICAS DE LAZER E LOCOMOÇÃO (ALL)	
Os escores das questões cinco a oito serão obtidos de acordo com as respostas das escalas de Likert	
O escore final de ALL deverá ser obtido de acordo com a fórmula especificada abaixo:	
$\text{Escore de ALL} = \frac{(6 - \text{questão13}) + \text{questão14} + \text{questão15} + \text{questão16}}{4}$	
Escore total de atividade física (ET)= AFO+EFL+ALL	

Anexo IV

Ao
Departamento de Clínica Médica

O Presidente da Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em 07.10.08, tomou ciência da execução do Protocolo de Pesquisa nº **0859/08**, intitulado: "**DENSIDADE MINERAL ALTA EM MULHERES PÓS MENOPAUSA: FATORES DETERMINANTES**".

No que tange sua parte empírica foi desenvolvido no **COMPLEXO HOSPITALAR HELIÓPOLIS**, tendo seu Comitê de Ética aprovado o estudo em 13.12.05.

Pesquisadora Responsável: **DR. CRISTIANO AUGUSTO DE FREITAS ZERBINI**

Pesquisadora Executante: **DRA. MARIA GUADALUPE BARBOSA PIPPA**

CAPPesq, 07 de outubro de 2008.

PROF. DR. EDUARDO MASSAD
Presidente da Comissão Ética para Análise
de Projetos de Pesquisa

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP

1 – Desenho do estudo e objetivo(s)

Durante seu exame de densitometria óssea realizada no Pam Heliópolis, observamos que a senhora apresentou valores de massa óssea acima dos valores usualmente encontrados em mulheres na sua idade, o que é considerado um ótimo resultado. Isto significa que a senhora não apresenta riscos maiores de ter fraturas causadas por osteoporose.

Por esta razão queremos avaliar quais os fatores que são responsáveis por estes altos valores na sua massa óssea, e a possível utilização dos mesmos na clínica médica diária, o que poderá vir a beneficiar outras mulheres. Por isto estamos lhe convidando a participar voluntariamente deste estudo de pesquisa. Antes de concordar em participar do mesmo, é importante que você leia e entenda todo o conteúdo deste documento.

O objetivo deste estudo é reunir informações sobre as possíveis causas que influenciam positivamente a quantidade de osso (massa óssea) das mulheres na pós menopausa.

2 – Descrição dos procedimentos que serão realizados, com seus propósitos e identificação dos que forem experimentais e não rotineiros;

A senhora fará um novo exame de densitometria óssea, só que desta vez serão avaliadas a massa óssea do seu corpo inteiro, assim como as quantidades de gordura e músculo nele presentes. Solicitaremos que a senhora responda a um questionário de saúde, com a finalidade de colher informações a respeito do seu histórico de saúde e da sua história ginecológica. Serão feitas cerca de 20 perguntas, com resposta de múltipla escolha. Marcaremos com um ' X ' a resposta que a senhora indicar. A senhora também responderá um questionário sobre sua história e hábitos dietéticos, e um outro questionário sobre suas atividades físicas diárias.

A senhora também fará um exame de sangue, onde serão coletados cerca de 20 ml para avaliação de exames laboratoriais (o que equivale a 3 colheres de sopa do sangue total). Os resultados dos exames de sangue lhe serão fornecidos e a senhora receberá uma explicação sobre os mesmos. Todos esses exames de sangue vão avaliar a situação atual do seu osso no que diz respeito ao seu funcionamento, e a possível relação com a quantidade de massa óssea que a senhora apresenta no exame de densitometria óssea. A equipe médica lhe informará os resultados da densitometria óssea do seu corpo inteiro. Este é um estudo epidemiológico que não envolve qualquer medicação.

Sua participação é inteiramente voluntária, não sendo de forma alguma pré-condição para que receba tratamento médico nesta Instituição. Caso a senhora interrompa a sua participação neste estudo, o médico responsável conversará com a senhora sobre quaisquer questões médicas referentes à interrupção de sua participação.

3 – Relação dos procedimentos rotineiros e como são realizados – coleta de sangue por punção periférica da veia do antebraço; exames radiológicos

Como dissemos anteriormente, a senhora fará uma nova densitometria óssea, semelhante ao exame que a senhora fez da coluna lombar e o seu fêmur. . Desta vez o exame será do seu corpo inteiro, por isso levará cerca de 15 minutos desde o início até o seu término. **Neste mesmo dia a senhora fará exames de sangue. Como não há necessidade de estar em jejum. Esses exames serão feitos após a realização da densitometria óssea.** Essa coleta de sangue consta de uma picada na região do antebraço (próximo à dobra do cotovelo), e talvez provoque um pouco de dor local, que é passageira. Às vezes algumas pessoas podem apresentar uma pequena equimose (mancha roxa) no local da picada, mas que desaparece em cerca de dois dias.

4 – Descrição dos desconfortos e riscos esperados nos procedimentos dos itens 2 e 3

Às vezes algumas pessoas podem apresentar uma pequena equimose (mancha roxa) no local da picada, mas que desaparece em cerca de dois dias. Geralmente essa mancha roxa é indolor.

5 – Benefícios para o participante (Por exemplo: Não há benefício direto para o participante). Trata-se de estudo experimental testando a hipótese de que somente no final do estudo poderemos concluir a presença de algum benefício.

Este estudo não é um estudo experimental, ou seja, não estamos avaliando nenhum método de diagnóstico ou medicação novos. Portanto, não haverá nenhum benefício adicional para senhora, a não ser orientação médica e acompanhamento em nosso ambulatório de reumatologia para as pacientes que tiverem indicação. Aquelas que não necessitarem de tratamento, certamente estarão contribuindo para a ciência médica, visto que todos os resultados que encontrarmos serão estudados detalhadamente . Os mesmos serão interpretados por nós, e utilizados na prática clínica.

6 – Relação de procedimentos alternativos que possam ser vantajosos, pelos quais o paciente pode optar;

Não se aplica a este estudo.

7 – Garantia de acesso: em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas.

Se a senhora tiver qualquer dúvida ou perguntas relativas ao estudo, no que diz respeito à sua participação, poderá entrar em contato com a [Dr Cristiano Augusto de F. Zerbini](#), que é o pesquisador principal deste estudo, no telefones (011): Celular: (11) 8351-4463 (qualquer horário) ou (11) 69157205 (7:00h às 16:00h). O mesmo também pode ser encontrado diariamente no PAM Heliópolis (bairro do Sacomã, São Paulo capital), no período da manhã (8.00 h às 12.00h). À tarde o Dr Cristiano encontra-se em seu consultório médico, que fica na região do Bairro da Bela Vista (SP capital), em frente ao Hospital Sírio Libanês, nos telefones acima citados. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar – tel: 3069-6442 ramais 16, 17, 18 ou 20, FAX: 3069-6442 ramal 26 – E-mail: cappesq@hcnet.usp.br

8 – É garantida a liberdade da retirada de consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na Instituição;

Você pode levar este documento para casa para avaliar juntamente com seus familiares, amigos e/ou médicos. Mesmo que a senhora assine este documento, é permitida a sua saída do estudo em qualquer momento do mesmo, sem qualquer prejuízo para a sua pessoa.

09 – Direito de confidencialidade – As informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros pacientes, não sendo divulgado a identificação de nenhum paciente;

Suas informações clínicas pessoais de saúde serão de caráter confidencial. Elas poderão ser usadas e divulgadas de acordo com a Declaração de Privacidade de dados anexa a este termo de compromisso (Anexo 3)

10 – Direito de ser mantido atualizado sobre os resultados parciais das pesquisas, quando em estudos abertos, ou de resultados que sejam do conhecimento dos pesquisadores;

Como parte de condução deste estudo clínico, será necessário compartilhar informações médicas sobre você com outras pessoas além do médico do estudo. Esta Declaração de Privacidade de Dados explica como suas informações médicas serão usadas e para quem elas serão dadas (“divulgadas”) para este estudo clínico. Ela também descreve seus direitos privacidade, incluindo o seu direito de ver suas informações médicas. Suas informações médicas são informações sobre você que podem ser usadas para descobrir quem você é, do ponto de vista médico. Para este estudo clínico, isto inclui informações em seus registros médicos existentes necessárias para este estudo e novas informações criadas ou coletadas durante o estudo.

11 – Despesas e compensações: não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas.

Também não há compensação financeira relacionada à sua participação. Se existir qualquer despesa adicional, ela será absorvida pelo orçamento da pesquisa.

Todos os procedimentos do estudo serão realizados no Pam Heliópolis, sem nenhum gasto para a sua pessoa. Você será reembolsado pelos gastos com transporte e alimentação relacionados à sua participação no estudo

12 - Compromisso do pesquisador de utilizar os dados e o material coletado somente para esta pesquisa.

Ao assinar o formulário de consentimento para este estudo, você dará permissão (“autorização”) para o uso e divulgações de suas informações médicas que estão descritas nesta declaração de Privacidade de Dados. Se você não quiser permitir estes usos, você não deve participar deste estudo.

Se você concordar em participar deste estudo clínico, suas informações médicas serão usadas e divulgadas das seguintes maneiras:

- O médico e a equipe do estudo usarão suas informações e registros médicos criados coletados durante o estudo para a condução do mesmo.
- Os dados do estudo não incluem seu nome, endereço ou outras informações que identificam você diretamente. Ao invés disso, o médico do estudo utiliza um código numérico aos dados do estudo e pode usar iniciais. Alguns dados do estudo podem conter informações que poderiam ser usadas (talvez em

combinação com outras informações) para identificar você (p. e.x, data de nascimento). Se você tiver perguntas sobre as informações de saúde específicas que serão transferidas, você deve perguntar ao médico do estudo.

- O pesquisador usará os dados do estudo para os propósitos de pesquisa a fim de apoiar os objetivos científicos do estudo descritos neste formulário de consentimento. Seus dados do estudo sejam isolados ou em combinação com dados de outros estudos, podem ser compartilhados com autoridades regulatórias neste país.
- Os dados do estudo que não identificam você podem ser publicados em revistas médicas ou compartilhados com outros como parte de discussões científica.
- Ser revistos pelo comitê de ética em pesquisa que supervisiona o estudo, e por autoridades regulatórias neste país. O objetivo destas revisões é garantir a qualidade da condução do estudo e dos dados do estudo, ou para outros usos autorizados por lei.
- O pesquisador não divulgará informações médicas pessoais a companhias de seguro, salvo se exigido a fazê-lo por lei, ou a menos que você forneça um consentimento separado por escrito para fazê-lo.
- Seus registros médicos e dados do estudo podem ser mantidos e processados em computadores.
- Você tem direito de ver e copiar suas informações médicas pessoais relacionadas ao estudo clínico enquanto estas informações forem mantidas pelo médico do estudo ou pela instituição de pesquisa. Entretanto, para assegurar a integridade científica do estudo, você não poderá revisar algumas das informações do estudo até depois do mesmo ter sido concluído.
- Você poderá cancelar a sua autorização a qualquer momento fornecendo um aviso por escrito ao médico do estudo. Se você cancelar sua autorização, o médico e equipe do estudo não mais usarão ou divulgarão suas informações médicas pessoais relacionadas a este estudo, a menos que o médico ou equipe do estudo precise usar ou divulgar algumas das suas informações médicas para preservar a integridade científica do estudo. O pesquisador ainda usará dados do estudo que foram coletados antes de você cancelar sua autorização. Se você cancelar sua autorização e retirar-se do estudo, você não será penalizado(a) ou perderá quaisquer benefícios aos quais você tem direito.

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo” **Densidade Mineral Óssea Alta em Mulheres Pós Menopausa: Fatores Determinantes**”.

Eu discuti com o Dr. **(Cristiano A. de F. Zerbini)** sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem

penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

Assinatura do paciente/representante legal Data ____/____/____

Assinatura da testemunha Data ____/____/____

para casos de pacientes menores de 18 anos, analfabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual.

(Somente para o responsável do projeto)

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo.

Assinatura do responsável pelo estudo Data ____/____/____