

Tatiane Vilaça

Influência do status de vitamina D na absorção
intestinal do estrôncio

Dissertação apresentada à Escola Paulista de
Medicina da Universidade Federal de São
Paulo para obtenção do título de Mestre em
Ciências pelo Programa de Pós-Graduação em
Medicina Translacional.

São Paulo

2013

Tatiane Vilaça

Influência do status de vitamina D na absorção intestinal do estrôncio

Dissertação apresentada à Escola Paulista de Medicina da Universidade Federal de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Ciências pelo Programa de Pós-Graduação em Medicina Translacional.

Orientadora: Prof. Dra Marise Lazaretti Castro

São Paulo

2013

Vilaça, Tatiane

Influência do status de vitamina D na absorção intestinal de estrôncio./Tatiane Vilaça - São Paulo, 2013

TOTAL DE FOLHAS PRE TEXTO E TEXTO

Tese (Mestrado)- Universidade Federal de São Paulo. Escola Paulista de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Medicina Translacional

Título em inglês: The Influence of vitamin D status on the absorption of Strontium

1.Absorção intestinal de estrôncio. 2. Status de vitamina D. 3. Teste de sobrecarga oral de estrôncio. 4. PTH. 5. Osteoporose.

Universidade Federal de São Paulo

Escola Paulista de Medicina

Departamento de Medicina

Chefe do Departamento de Medicina: Prof. Dr. Alvaro Nagib Atallah

Coordenadora do Curso de Pós-Graduação: Prof.^a Dr.^a Dulce Elena Casarini

Agradecimentos

A Deus, que me acompanha sempre.

À Dr.^a Marise, que gentilmente me acolheu em seu serviço e me proporcionou inúmeras oportunidades. Sua confiança, orientação, incentivo e dedicação foram essenciais nesta trajetória. Serei sempre grata a ela, por ter me ensinado muito mais que osteometabolismo.

A Marília, que me acolheu em seu projeto e dividiu comigo todas as dificuldades, angústias e frutos de um projeto clínico. Com ela aprendi a dividir para acrescentar. As dificuldades tornam-se muito mais fáceis para quem não está sozinho.

Às pacientes que depositaram em mim confiança e me disponibilizaram seu tempo e apoio para que este trabalho pudesse ser realizado. Sem elas nada disso seria possível.

Às funcionárias da “casinha”, em especial Ivonete, Vanda e Geni, pela ajuda irrestrita em todos os momentos de necessidade. Elas foram essenciais.

Aos “calcificados”, “ionizados” e todos os outros nomes assumidos durante o percurso. Eles tornaram leve, divertida e agradável esta caminhada, através de uma convivência edificante. Cresci ao dividir o trabalho, as angústias, as dificuldades e os bons momentos. Tenho certeza de que amizades duradouras surgiram em nosso ambulatório.

A Lilian F Hayashi, Dr. Ivan Rassi e Olguita Ferreira, pelas contribuições nas avaliações das amostras, essenciais para este trabalho.

A Gianni dos Santos, pelas valiosas orientações durante a análise estatística.

Aos meus pais, pelo apoio irrestrito, que dá força e segurança.

A Flávio, Renata e Ademir, pela insubstituível alegria de ser irmã.

Ao Guilherme, pelo exemplo diário inspirador. Sempre crescendo e me fazendo crescer.

Aos amigos, colegas e professores que me apoiaram sempre e estimularam em mim o gosto pelo aperfeiçoamento.

“A sabedoria não se transmite, é preciso que a gente mesmo a descubra depois de uma caminhada que ninguém pode fazer em nosso lugar, e que ninguém nos pode evitar (...).”

Marcel Proust

Resumo

Introdução: O estrôncio e o cálcio são metais **alcalinoterrosos** com múltiplas semelhanças. Estudos sugeriram que ambos utilizam a mesma via de absorção intestinal, o que motivou o uso do estrôncio para avaliação indireta da absorção intestinal do cálcio. Extensa investigação já foi realizada sobre os fatores que regulam a absorção intestinal do cálcio, destacando-se o papel da vitamina D, entretanto pouco se sabe sobre a regulação da absorção do estrôncio. A influência deste sobre a homeostase do cálcio também não está esclarecida. Como o paratormônio (PTH) é o principal regulador da homeostase do cálcio, torna-se importante avaliar o seu comportamento na presença do estrôncio. Assim, os objetivos deste trabalho são avaliar a influência do status de vitamina D na absorção intestinal do ranelato de estrôncio e descrever o comportamento do PTH diante da sobrecarga oral desse mineral.

Pacientes e métodos: Cinquenta pacientes do sexo feminino na pós-menopausa com osteopenia ou osteoporose com função renal normal, em acompanhamento no ambulatório de Doenças Osteometabólicas, foram recrutadas e divididas em dois grupos de acordo com seu status de vitamina D: 25 suficientes (SUF) e 25 deficientes (DEF). Foram considerados SUF níveis de 25(OH) vitamina D maiores que 30 ng/mL e DEF, níveis menores que 20 ng/mL. Após coleta de exames para avaliação inicial em jejum (incluindo dosagem sérica de Sr), cada paciente recebeu 1 gr de ranelato de estrôncio dissolvido em 200 mL de água deionizada. A seguir, foram colhidas amostras para dosagem sérica de estrôncio e PTH após 30, 60, 120 e 240 minutos. As 25 pacientes DEF em vitamina D foram tratadas e submetidas a novo teste após alcançar níveis maiores que 30 ng/mL. A absorção intestinal do estrôncio foi avaliada através da fração absorvida (FA) em cada tempo e da área total sob a curva concentração de Sr x tempo. Para cálculo da FA foi utilizada a fórmula:

$$FA = \frac{(Sr_t - Sr_0) \times 15\% \text{ peso}}{\text{Dose administrada de Sr}}$$

Sendo Sr_t a concentração sérica de Sr no tempo selecionado e Sr_0 a concentração basal de Sr (tempo 0).

Resultados: Os dois grupos, DEF e SUF, eram semelhantes, exceto pelos níveis de 25OHD ($15,4 \pm 5,4$ x $39,36 \pm 7,32$ ng/mL $p < 0,001$), $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ ($24,97 \pm 4,64$ x $36,3 \pm 10,2$ pg/mL $p < 0,001$) e dose de colecalciferol em uso ($808,76 \pm 689,5$ x $1712,4 \pm 724,8$ UI/d $p < 0,001$). O tratamento da deficiência de vitamina D resultou em aumento significativo de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ ($24,97 \pm 4,64$ x $34,62 \pm 9,14$ pg/mL $p < 0,001$) e redução de PTH ($73,87 \pm 37,50$ x $58,24 \pm 20,13$ pg/mL $p = 0,006$). Não houve diferença na absorção de estrôncio entre DEF e SUF. O tratamento do grupo deficiente tampouco resultou em aumento da absorção. A sobrecarga de estrôncio associou-se com diminuição significativa dos níveis de PTH seguida de recuperação, nas pacientes DEF e SUF. Não houve diferença na magnitude da variação do PTH nos dois grupos.

Conclusão: A correção da deficiência de vitamina D foi eficaz para elevar seu metabólito ativo $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ e reduzir PTH. A ingestão oral de Sr associou-se a queda aguda nos níveis de PTH. O tratamento da deficiência de vitamina D é recomendado, entretanto os dados demonstram que o status da vitamina D parece não ser determinante na absorção intestinal do ranelato de estrôncio.

Resumo em inglês

Strontium (Sr) and calcium are alkaline Earth metals with multiple similarities. It has been suggested that they share the same path of intestinal absorption. Sr has even been used as a surrogate of calcium absorption. The features that regulate calcium absorption had been extensively investigated. Vitamin D role is remarkable. However, little is known about strontium intestinal absorption's regulation. Moreover, the effects of strontium in calcium homeostasis are not well established. PTH is the major regulator of calcium homeostasis. Thus, the aims of this study are to evaluate the influence of vitamin D status in strontium ranelate intestinal absorption and to describe PTH behavior during strontium oral overload.

Patients and Methods

Fifty patients presenting osteopenia or osteoporosis and normal renal function from a Bone Disease clinic were invited to join the study. Twenty-five patients with vitamin D deficiency (25OHD <20 ng/mL) and 25 with vitamin D sufficiency (25OHD >30 ng/mL) were submitted to an oral strontium overload test. Strontium and PTH were measured at baseline and at 30, 60, 120 and 240 minutes after the ingestion of 1 gr of strontium ranelate. The deficient patients were treated until the reach of adequate vitamin D levels (25(OH)D > 30 ng/mL) and the test was repeated. Strontium absorption was evaluated as the fraction of the absorbed dose and the area under the strontium concentration X time curve.

Results

The two groups were similar, except for 25OHD levels, by design, ($15,4 \pm 5,4$ x $39,36 \pm 7,32$ ng/mL $p < 0,001$), $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ ($24,97 \pm 4,64$ x $34,62 \pm 9,14$ pg/mL $p < 0,001$) and cholecalciferol dose in use ($808,76 \pm 689,5$ x $1712,4 \pm 724,8$ UI/d $p < 0,001$). Vitamin D treatment resulted in significant increase in $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ ($24,97 \pm 4,64$ x $34,62 \pm 9,14$ pg/mL $p < 0,001$) and a reduction in PTH ($73,87 \pm 37,50$ x $58,24 \pm 20,13$ pg/mL $p = 0,006$).

No differences were found in the parameters used to evaluate Sr absorption between the vitamin D deficient and sufficient groups. Moreover, no difference in Sr absorption was found in the deficient group following treatment. The Sr increment on blood was followed by a significant decrease in PTH levels followed by recovery. The

variation was similar between deficient and sufficient groups, with mean PTH decrement of 27.7% for sufficient, 23.8% for deficient and 26.6% after Vitamin D correction. Interestingly, this decrease was transient, despite crescent concentrations of Sr, with most patients reaching a nadir at 60 min.

Conclusion: The correction of vitamin D deficiency resulted in significant increase in 1,25(OH)₂D and reduction in PTH. Oral ingestion of Sr was associated with acute decrease of PTH levels. Taking into account the benefits of adequate vitamin D status in osteoporotic patients, we strongly recommend treatment of vitamin D deficiency. However the data show that vitamin D status does not determine of Sr intestinal absorption.

Lista de Figuras

Figura 1 - Molécula de ranelato de estrôncio _____	7
Figura 2 - Evolução dos níveis de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ no grupo DEF antes e após tratamento _____	14
Figura 3 - Comportamento do PTH no grupo DEF antes e após tratamento _____	15
Figura 4 - Média e DP das concentrações de Sr encontradas nos grupos DEF e SUF _____	16
Figura 5 - Curvas das concentrações médias de Sr encontradas durante o teste nos três grupos _____	16
Figura 6 - Área total sob a curva (média e DP) encontrada durante o teste nos três grupos _____	17
Figura 7 - Fração absorvida da dose de Sr (FAD) em pacientes DEF e SUF ao longo dos 240 minutos do teste _____	17
Figura 8 - Fração de absorção (FAD) no grupo DEF antes e após tratamento _____	18
Figura 9 - Distribuição do tempo de nadir do PTH entre as pacientes SUF e DEF antes e após tratamento _____	20
Figura 10 - Comportamento do PTH ao longo da sobrecarga de Sr em pacientes SUF e DEF antes e após tratamento com colecalciferol _____	21

Lista de Tabelas

Tabela 1- Características das pacientes participantes do estudo _____ 13

Tabela 2- Evolução dos valores de PTH durante o teste de sobrecarga oral com Sr _____ 19

Lista de abreviaturas e siglas

25OHD – 25-hidroxi-vitamina D

1,25(OH)₂D – 1,25 dihidroxi-vitamina D

Alb – albumina

ANOVA – Análise de Variância

ASC – área sob a curva BRAZOS - Brazilian Osteoporotic Study

Ca – Cálcio

CaSR – receptor sensor de cálcio

CaT – cálcio total

CaU – cálcio urinário

CETEC – Centro Tecnológico de Minas Gerais

Cr – creatinina

CrU – creatinina urinária DMO- densidade mineral óssea

DEF – deficientes

DP – desvio padrão

FAD – fração absorvida da dose ICP-MS - Espectrômetro de Massas acoplado a plasma

INMETRO – Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia

IOM – Institute of Medicine

P – fósforo

Pe – peso

PTH – paratormônio

SPSS – Statistical Package for the Social Science

Sr – estrôncio

Sr₀ – nível sérico de Sr no tempo zero (basal)

Sr_d – dose de estrôncio administrada

Sr_t – nível sérico de Sr em determinado tempo

Sr Cl₂ – cloreto de estrôncio

SUF – suficientes

TTO – tratamento

UV – ultravioleta

Sumário

1.0 Introdução	1
1.1 Osteoporose	1
1.2 Paratormônio	3
1.3 Estrôncio	4
1.4 Ranelato de estrôncio	6
1.5 Vitamina D	7
2.0 Objetivos	9
3.0 Pacientes e Métodos	9
3.1 Teste de absorção intestinal de estrôncio	10
3.2 Métodos analíticos	11
3.3 Análise estatística	12
4.0 Resultados	13
5.0 Discussão	22
6.0 Conclusões	32
7.0 Referências bibliográficas	33
8.0 Apêndice – Anexo 1	44
Anexo 2	45

1.0 - Introdução

O osso é um tecido conectivo altamente especializado. É composto por matriz orgânica (colágeno) mineralizada por cristais de hidroxiapatita, combinando elasticidade e rigidez. Suas principais funções são: suporte, que possibilita a movimentação, proteção de órgãos nobres (como o crânio e a coluna) e reservatório de íons. Durante a vida, o tecido ósseo mantém-se em atividade através de processo acoplado de reabsorção – formação, caracterizando a remodelação óssea. Após a terceira década de vida, há predomínio discreto da reabsorção sobre a formação, levando a perda progressiva. Nas mulheres, o ritmo de perda é acelerado intensamente pela menopausa, pois hormônios sexuais são importantes para a manutenção óssea. A perda contínua, exacerbada ou não por outros fatores, como tabagismo, etilismo ou corticoterapia, pode levar à osteoporose (1).

1.1 - Osteoporose

A osteoporose é uma doença esquelética sistêmica caracterizada por comprometimento da resistência óssea e aumento do risco de fraturas. Somente nos Estados Unidos ocorrem mais de 2 milhões de fraturas osteoporóticas anualmente e espera-se aumento desse número por associação ao envelhecimento da população(2). No Brasil, estimativas variam entre 5,5 a 10 milhões de portadores da doença. (3). Fraturas osteoporóticas estão associadas a aumento de morbidade e mortalidade e resultam em alto custo econômico e social (4).

A densidade mineral óssea (DMO) é o melhor preditor isolado do risco de fraturas. Estudos prospectivos sugerem que a redução de um desvio-padrão na massa óssea de coluna e colo de fêmur ou rádio distal dobra o risco de fratura (2,5). A densitometria óssea, realizada em densitômetros por absorção de raios X de dupla energia (DXA), avalia a densidade mineral óssea. Os dados encontrados são comparados com padrões em adultos jovens, que possuem as maiores densidades minerais ósseas e o menor risco de fraturas. Os valores são expressos em desvios-padrão em relação a essa DMO considerada “ideal”. Valores inferiores a 2,5 desvios-padrão são diagnósticos de osteoporose. Embora essa avaliação considere apenas a quantidade de tecido mineralizado, e não a qualidade óssea, não existe, até o momento, outra ferramenta de tamanha eficácia e reprodutibilidade na avaliação de fragilidade óssea (5).

A realização de densitometria óssea por DXA em uma população de 301 indivíduos acima de 70 anos, moradores da cidade de São Paulo (SP), revelou prevalência de osteoporose de 16,1% em homens e 33,2% em mulheres (6). O estudo SAPOS (The São Paulo Osteoporosis Study), realizado na cidade de São Paulo (SP), avaliou 4.322 mulheres maiores de 40 anos e encontrou prevalência de osteoporose de 33%(7). Para investigar a prevalência de fraturas, o estudo BRAZOS (The Brazilian Osteoporosis Study) avaliou uma amostra representativa de indivíduos de ambos os sexos com 40 anos ou mais, de todas as regiões brasileiras, e encontrou fraturas em 15,1% das mulheres e 12,8% dos homens. Esse número, entretanto, se refere apenas a fraturas relatadas, mas não confirmadas por exames de imagem, portanto pode não ser tão preciso.

A incidência de fraturas de fêmur na população acima de 50 anos, em diversos países de mundo, variou de 9,6/10.000 e 10,7/10.000, respectivamente, em mulheres e homens, na China, a 118/10.000 e 44/10.000, na Noruega (8). Estudos regionais que avaliaram a incidência de fraturas de fêmur no Brasil encontraram valores intermediários, em comparação com os dados de literatura. Em Porto Alegre (RS), a avaliação da ocorrência de fraturas de fêmur na população acima de 20 anos, baseada em registros hospitalares, revelou incidência anual de 20,2 fraturas por 10.000 em mulheres e 10,5 por 10.000 em homens, entretanto os dados não se restringiram a fraturas de fragilidade (9). Em Sobral (PE), a incidência anual encontrada foi de 20,7 e 8,9 por 10.000 habitantes para mulheres e homens maiores que 60 anos, respectivamente (10). Um estudo retrospectivo realizado em Fortaleza (CE) encontrou incidência de 21,8 fraturas por 10.000 habitantes/ano na população acima de 60 anos, sendo 27,5/10.000 no sexo feminino e 13/10.000 no sexo masculino (11). Avaliação realizada em Marília (SP) descreveu incidência de 28,8 por 10.000 em mulheres e 13,6 por 10.000 em homens (12). Esses estudos são passíveis de críticas, devido às múltiplas dificuldades encontradas para realização de estudos epidemiológicos no país, embora tragam uma informação muito importante.

Poucos são os estudos epidemiológicos que tentaram encontrar a incidência de fraturas vertebrais na população brasileira. Como se acredita que 2/3 sejam assintomáticas, a determinação da prevalência implica a confirmação por exame de radiografia da coluna vertebral. A presença de fraturas, mesmo assintomáticas, é

considerada fator de risco para novas fraturas, uma vez que a recorrência no primeiro ano é de 19% (2).

O estudo LAVOS (Latin America Vertebral Osteoporosis Study) foi o primeiro estudo epidemiológico que avaliou prevalência de fraturas vertebrais radiológicas na América Latina. Foi avaliada uma amostra randomizada de 1.922 mulheres na pós-menopausa e descrita uma prevalência de 11,8%. O setor brasileiro incluiu 415 mulheres de Vitória (ES) acima dos 50 anos e encontrou prevalência de fraturas vertebrais de 14,8% (13), dados compatíveis com o achado de 11,5% de fraturas confirmadas por radiografias encontrado no estudo SAPOS em mulheres com 40 anos ou mais (7).

1.2 - Paratormônio

O paratormônio (PTH) é um hormônio peptídico sintetizado pelas células principais da paratiróide e responsável pelo controle dos níveis séricos de cálcio ionizado(1,14). Ao ligar-se ao receptor desencadeia respostas que levam a aumento dos níveis séricos do mineral. No osso, estimula a reabsorção, mobilizando Ca dos estoques esqueléticos. Nos rins, aumenta a reabsorção do íon pelos túbulos renais e estimula a conversão de 25 hidroxí-vitamina D (25OHD) em 1,25 dihidroxí-vitamina D [1,25(OH)₂D], o que resulta em aumento na absorção intestinal(1,14). Além disso, é capaz de mobilizar cálcio solúvel de compartimentos extracelulares (14). O aumento resultante de cálcio e também de 1,25 (OH)₂D exerce feedback negativo sobre as paratireóides, que diminuem a secreção do hormônio. (1,14).

O gene do PTH situa-se no cromossoma 11 e possui 3 éxons (1,14). A tradução de seu RNA resulta em uma molécula precursora (pré-proPTH), que sofre duas clivagens para originar a forma ativa de 84 aminoácidos, que permanece armazenada em vesículas de secreção intracelulares até a liberação (1,14). A síntese de PTH é regulada pelo cálcio (Ca), fósforo (P) e pela vitamina D ativa (1,25(OH)₂D ou calcitriol). O principal estímulo para a síntese é a hipocalcemia. Esse estímulo desencadeia instantaneamente a secreção do hormônio e estimula a produção. A hiperfosfatemia tem efeito estimulatório direto e indireto, devido à hipocalcemia provocada (mecanismos envolvidos no hiperparatireoidismo secundário

encontrado nos pacientes portadores de insuficiência renal crônica). A $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ inibe diretamente a transcrição do gene do PTH, resultando em feed-back negativo. (1,14)

O maior regulador da secreção de PTH é o cálcio ionizado. O controle se dá através de um receptor transmembrana acoplado à proteína G, o receptor/sensor de cálcio (CaSR) (1,14). Embora originalmente chamado de receptor/sensor de cálcio, foi demonstrada ligação e ativação por outros compostos como cátions divalentes, como magnésio (Mg) e estrôncio (Sr), além de alguns aminoácidos e aminoglicosídeos (15). O receptor/sensor encontra-se amplamente distribuído no organismo (15) e sua presença foi demonstrada em outros órgãos envolvidos na homeostase do Ca, como túbulos renais, células C da tiroide e células do tecido ósseo, como osteoblastos e osteócitos, além de tecidos com funções diversas, como no cérebro, na hipófise, no pulmão e na pele (15).

Inicialmente clonado de células de paratiroide bovina, o CaSR é altamente expresso em tecidos envolvidos na regulação da homeostase do cálcio, como paratiroides, células C da tiroide (envolvidas com secreção de calcitonina), diversos segmentos do túbulo renal, além de células do tecido ósseo (osteoblastos e osteoclastos) (15). Trata-se de um receptor transmembrana acoplado à proteína G, capaz de detectar pequenas alterações nas concentrações séricas de Ca, em milimolares (16). Sua interação com o cálcio ativa as fosfolipases A_2 , C e D entre outras vias, o que leva a aumento intracelular do Ca e diminuição da secreção e síntese de PTH (15,16). A secreção de PTH apresenta relação sigmoidal inversa com as concentrações séricas de Ca (16).

1.3 Estrôncio

O estrôncio (Sr) é um metal de número atômico 38 presente em pequenas quantidades na superfície terrestre. Encontra-se distribuído, principalmente, no solo e na água (17). No organismo humano, não participa de nenhum ciclo biológico vital e apenas traços são encontrados (18). Pertence ao grupo dos metais alcalinoterrosos, assim como o cálcio (Ca - número atômico 20) e o magnésio (Mg -

número atômico 12), com os quais compartilha algumas características (17). Em fluidos biológicos forma cátions divalentes com ligação variável a proteínas. Normalmente, é pouco absorvido pelo intestino. Em ratos, a absorção intestinal diminui com a idade, porém não há avaliações semelhantes em humanos. A maior parte do Sr dietético é absorvida no jejuno (17). Foi demonstrado, em animais, o aumento da absorção intestinal de Sr com uso de vitamina D, como ocorre com o Ca (19).

Os cátions divalentes utilizam os mesmos sistemas de transporte na mucosa intestinal e no túbulo renal, com particularidades para o transporte de cada elemento (18,20,21,22). O transporte do Ca é mais eficiente que o Sr em ambos os órgãos. Nielsen sugeriu que a absorção preferencial de Ca pode ser atribuída ao menor tamanho de seu átomo (17). Wasserman destacou a importância de mecanismos mais eficientes de transporte intracelular e exocitose do Ca (20).

Nielsen avaliou o transporte de cátions divalentes através da mucosa duodenal e sugeriu que a absorção intestinal do Sr é inteiramente passiva (17). Entretanto outras evidências sugerem que a absorção intestinal de Sr se correlaciona com a absorção intestinal de Ca e também parece ser regulada por hormônios calcitropicos (23).

O Sr tem capacidade de depositar-se nos ossos. Estudos em animais sugeriram que a presença do mineral na superfície óssea pode bloquear a reabsorção mediada por osteoclastos, sem efeito citotóxico aparente (21). O Ca não tem a mesma habilidade. O Sr parece ser capaz de inibir diretamente o recrutamento e a ativação de osteoclastos e de reduzir a reabsorção óssea *in vitro*, sem exercer efeitos tóxicos sobre essas células (21). Canalis et al mostraram que o Sr aumentou a replicação de pré-osteoblastos e a síntese de colágeno, mecanismos responsáveis pelo aumento de formação óssea verificado com esse elemento (24).

Efeitos do Sr *in vivo* estão relacionados à dose administrada. Estudos em animais (ratos e camundongos), com avaliação morfométrica e bioquímica, mostraram que o Sr não exerce efeitos tóxicos no osso ou células ósseas quando a ingestão corresponde a até 1% da dieta (25). Altas doses do mineral, a longo prazo, podem levar a alterações esqueléticas quando associadas a uma dieta pobre em Ca. Nesses casos, o Sr parece induzir raquitismo, defeitos de mineralização e

alteração do conteúdo mineral, ao competir com o Ca pela absorção intestinal (17,21,25). Omdahl e colaboradores sugeriram que altas doses de Sr podem diminuir 1 α -hidroxilação da 25 OH vitamina D (26). Não há relato de toxicidade pelo Sr em humanos (17).

Após absorvido, o Sr pode ser excretado através dos rins e do trato gastrointestinal ou ficar depositado nos ossos (17). Trata-se de um elemento presente no organismo em concentrações entre 1.000 e 10.000 vezes menores que as do Ca (16). Após a sobrecarga oral de Sr, as concentrações séricas se elevam, não a ponto de atingir as concentrações do Ca (concentrações 20 vezes menores que as do Ca). Devido às semelhanças químicas, é possível que o Sr possa interferir na homeostase do Ca.

1.4 - Ranelato de estrôncio

O ranelato de estrôncio é efetivo no tratamento da osteoporose e reduz a incidência de fraturas vertebrais e não vertebrais (27,28,29). É composto por 2 átomos de Sr estável e um ácido orgânico inerte e não absorvido, o ácido ranélico.

O Sr, por sua vez, apresenta biodisponibilidade de 25%, baixa ligação a proteínas e não é metabolizado pelo organismo. A eliminação é renal e pelo trato gastrointestinal. A absorção no trato gastrointestinal ocorre através de dois mecanismos básicos: um mecanismo ativo, saturável e outro passivo, dependente de gradiente de concentração, como com o cálcio. A absorção de Sr é predominantemente ativa com administração de até 1 gr de ranelato de Sr. Doses acima de 1 gr saturam os mecanismos ativos de absorção, mobilizando a absorção passiva.

Após a absorção no trato gastrointestinal, o Sr, componente ativo, é incorporado ao osso, resultando em diminuição da reabsorção e aumento da formação óssea. Esse mecanismo parece levar a um balanço positivo de remodelamento. Estudos que avaliaram a microarquitetura óssea demonstraram, em relação ao placebo, aumento do número de trabéculas, diminuição da separação entre elas, melhora de índices da estrutura, além do aumento da espessura da cortical em mulheres tratadas com Sr (30,31). Os mecanismos responsáveis pelo

desencadeamento de tais efeitos ainda são desconhecidos. A medicação apresenta boa tolerabilidade e poucos efeitos colaterais (28,29).

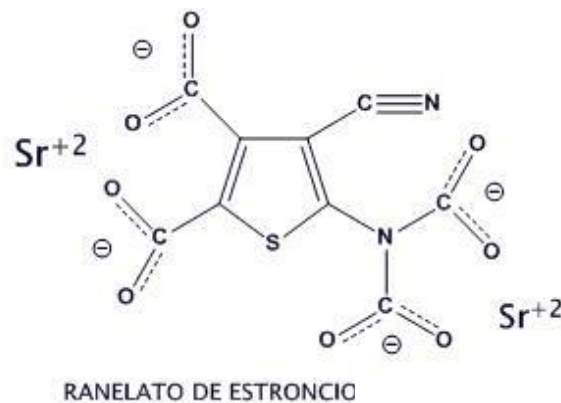


Figura 1 - Molécula de ranelato de estrôncio

1. 5 - Vitamina D

A vitamina D é um elemento importante na manutenção da saúde óssea. Trata-se de um pré-hormônio esteroide, cuja principal fonte é a produção cutânea, através da ação de raios ultravioleta (UV) sobre 7-deidrocolesterol. O produto dessa reação, o colecalciferol, é hidroxilado, primeiramente, no fígado, formando a 25-hidroxivitamina D (25OHD). Nos rins, por um processo enzimático rigorosamente controlado pelo PTH e pelo fator de crescimento de fibroblastos 23 (FGF-23), ocorre a 1 α -hidroxilação, que produz um poderoso hormônio, a 1,25-dihidroxivitamina D (1,25(OH)₂D), também conhecido por calcitriol. A 25OHD reflete os estoques corporais dessa vitamina e a sua forma ativa (1,25(OH)₂D) age estimulando a absorção do cálcio e fósforo no intestino e inibindo diretamente a liberação de PTH (1,14).

A vitamina D ativa é essencial para a absorção ativa do cálcio, pois participa das três etapas do processo (32). Ela favorece o transporte do cálcio através da borda em escova pelos canais na membrana plasmática. No meio intracelular, o Ca se liga à calbindina, proteína que direciona o íon para a membrana basolateral, onde ele pode ser transportado para o meio extracelular. A síntese de calbindina é totalmente dependente de vitamina D ativa. A exocitose do cálcio é mediada por Ca-ATPase. A fosforilação da enzima induz uma mudança conformacional que

possibilita o transporte do íon. A 1,25(OH)₂D aumenta o número de enzimas na membrana basolateral dos enterócitos. (32).

Há controvérsias sobre as condições ideais de vitamina D representada pelas concentrações plasmáticas de 25OHD. A deficiência grave causa raquitismo em crianças e osteomalácia em adultos (1). Embora suficientes para evitar osteomalácia, níveis baixos de vitamina D associam-se ao hiperparatiroidismo secundário (33), com conseqüente aumento do remodelamento ósseo, diminuição da DMO e aumento da incidência de fraturas (34,35). Chapuy e colaboradores mostraram, em adultos saudáveis, que as concentrações PTH se correlacionam inversamente com 25OHD e níveis menores que 31ng/ml eram acompanhados de aumento do PTH (35). Não há consenso sobre quais são as concentrações ideais de 25OHD. Há dados na literatura que indicam 20 ,25 ,30 e até 37,0 ng/mL como níveis adequados (36). Em 2010, o Instituto de Medicina americano (órgão que regulamenta as recomendações de ingestão diária de vários nutrientes) estabeleceu concentrações de 20ng/mL como adequadas (37). No ano seguinte, a Sociedade Americana de Endocrinologia sugeriu concentrações acima de 30 ng/mL. (38) Na publicação, indivíduos com concentrações entre 20 e 30 ng/mL foram considerados insuficientes (38). Há estudos que demonstraram relação inversa entre PTH e 25OHD, até valores entre 30-40 ng/mL quando um platô é atingido (35). Uma meta-análise que avaliou a ingestão de vitamina D e a prevenção de fraturas encontrou diminuição do risco de fraturas de quadril e não vertebrais com níveis acima de 30ng/mL (39). Não existem orientações específicas para a população brasileira. A Sociedade Americana de Endocrinologia sugere que pacientes portadores de osteoporose devem receber suplementação com colecalciferol, a fim de manter os níveis séricos de 25OHD acima de 30 ng/mL (38).

Vários estudos chamaram a atenção para a frequência alta de deficiência de vitamina D em todas as latitudes, independentemente das concentrações utilizadas para definir essa condição (34,35, 40, 41). Mesmo com pontos de corte conservadores, como 20 ng/mL, há incidência alta de deficiência de vitamina D. Os idosos apresentam a maior prevalência, variando de 5 a 25% entre indivíduos independentes e de 60 a 80% entre os institucionalizados, nos Estados Unidos (34). No Brasil, Saraiva e colaboradores, utilizando 20 ng/mL como ponto de corte, descreveram deficiência de vitamina D em 71,2% dos idosos institucionalizados e

em 43,8% dos idosos ambulatoriais (33). Os dados surpreendem, pois o Brasil é um país com altos índices de insolação. A população idosa merece interesse especial, uma vez que a eficiência da produção cutânea de vitamina D diminui com a idade (1).

A vitamina D é importante para a absorção de Ca (1,14). Alguns estudos sugeriram que o status de vitamina D é determinante da absorção desse mineral (42-45). Entretanto, até o momento, não foi descrito o papel da vitamina D sobre a absorção intestinal do ranelato de estrôncio. Os estudos que avaliaram a eficácia do ranelato de estrôncio usaram suplementação concomitante com Ca e vitamina D (27,28). Os fatores que regulam a absorção de Sr ainda não foram determinados, mas se assume que são semelhantes aos que regulam o metabolismo do Ca (32,46,47). Apesar da comprovada semelhança físico-química entre o Sr e o Ca, a interferência do primeiro na homeostase do segundo ainda não está completamente elucidada. Assim, este estudo se propõe a avaliar a interferência do status de vitamina D na absorção do ranelato de estrôncio e descrever o comportamento do PTH na ingestão oral desse mineral.

2. Objetivos

A- Avaliar se o status de vitamina D influencia a absorção oral do ranelato de estrôncio em pacientes portadoras de osteopenia ou osteoporose.

B- Avaliar o efeito agudo da administração de Sr sobre as concentrações séricas de PTH.

3. Pacientes e Métodos

O projeto teve a aprovação do Comitê de Ética da Universidade Federal de São Paulo e todas as pacientes forneceram consentimento informado (CEP0839/08). (Anexos 1 e 2)

Cinquenta mulheres em pós-menopausa acompanhadas no ambulatório de doenças osteometabólicas da disciplina Endocrinologia da Universidade Federal de

São Paulo foram convidadas a participar do projeto, selecionadas de acordo com os respectivos status de vitamina D e divididas em dois grupos: vinte e cinco mulheres deficientes (DEF) e vinte e cinco mulheres suficientes (SUF). Foram consideradas DEF as pacientes com 25OHD menor que 20 ng/mL e SUF aquelas com concentrações maiores que 30 ng/mL. Os dois grupos foram submetidos inicialmente a um teste de sobrecarga oral com Sr. Em seguida, as pacientes DEF receberam tratamento com colecalciferol até atingir níveis maiores que 30 ng/mL. Somente nestas o teste de sobrecarga oral foi repetido.

Todas apresentavam valores normais de cálcio total (CaT), fósforo (P) e creatinina (Cr) e não tinham história de doenças gastrointestinais ou insuficiência renal crônica. Além disso, não faziam uso de medicamentos que pudessem interferir nos resultados do teste, como glicocorticoides orais, anticonvulsivantes, terapia de reposição hormonal nos últimos 3 meses, hidróxido de alumínio, tetraciclina e quinolonas nas 2 últimas semanas.

Como as pacientes encontravam-se em tratamento, muitas faziam uso de suplementação de vitamina D. A dose de colecalciferol em uso foi calculada a partir do relato da ingestão nos 3 meses antecedentes ao teste. As doses foram descritas em unidades por dia (UI/d) independente da posologia de administração (diária ou semanal).

3.1 Teste de absorção intestinal de Sr

Foram colhidas amostras de sangue para dosagem de 25OHD e estabelecimento do status de vitamina D até uma semana antes do teste. Após jejum noturno, foi colhida amostra para dosagem basal de Ca total (CaT), P, creatinina (Cr), albumina (Alb), PTH, Sr e 1,25(OH)₂D.

Um grama de ranelato de estrôncio (Protos®) foi dissolvido em 200 mL de água deionizada e administrada a cada paciente. Foram colhidas amostras de sangue para dosagem de Sr (em duplicata) e PTH em 0, 30, 60, 120 e 240 minutos. Durante o teste, o acesso venoso foi mantido por cateter heparinizado. Não foi permitida a ingestão de qualquer alimento durante as quatro horas do teste. As amostras para dosagem de Sr foram colhidas em tubos especiais livres de metais (Tubo BD Vacutainer No Additive Tampa Azul 7 mL Ref 369737). As amostras para

dosagem de PTH foram resfriadas logo após a coleta. Todas as amostras foram centrifugadas a 1.900 rotações por min, por 10 min, e estocadas a -20° até análise.

O ranelato de estrôncio (Protos®) foi gentilmente fornecido pela Servier do Brasil.

3.2 Métodos analíticos

Cr, P, CaT e CaU foram medidos por método colorimétrico automatizado (Olympus AU 640, automated analyzer; Olympus America Inc. Diagnostic System Division, Melville, NY, EUA).

O PTH foi dosado por quimioluminescência (Elecsys 1010 immunoassay analyzer; Roche Diagnostics, Indianapolis, Indiana, EUA), com coeficientes de variação intra e interensaio de 1,01% e 6,45% respectivamente.

25OHD foi dosado por quimioluminescência (LIAISON 25OHVitamin D Total-DiaSorin, Stillwater, MN, EUA), com coeficientes de variação intraensaio de 1,62% e interensaio de 5,61%.

Radioimunoensaio após imunoextração foi utilizado para avaliação de 1,25(OH)₂D (1,25-dihydroxy vitamin D RIA, IDS, Boldon, UK). O coeficiente de variação foi 7-11% e a taxa de recuperação de 97-108%.

As dosagens de Sr foram realizadas por espectrometria de massa no Centro de Tecnologia de Minas Gerais (CETEC). Foi utilizado Espectrômetro de Massas acoplado a plasma - ICP MS – Perkin Elmer® modelo Elan. O método foi validado com base em recomendações do INMETRO e organismos internacionais. A precisão interensaio foi de aproximadamente 4%. Todas as amostras de Sr foram processadas e analisadas em duplicada. A média dos valores encontrados foi utilizada para análise.

A absorção de Sr foi avaliada através da dose absorvida da dose de Sr (FAD) em cada tempo do teste (30, 60, 120 e 240 minutos) e a área total sob a curva (ASC).

Para cálculo da FAD, assumiu-se que o volume extracelular corresponde a 15% do peso corporal. Foi utilizada a seguinte fórmula:

$$FAD_t = \frac{(Sr_t - Sr_0) \times 15 \times Pe}{Sr_d \times 100}$$

sendo Sr_t a dosagem de Sr em cada tempo específico, Sr_0 a dosagem basal de Sr, Pe o peso e Sr_d a dose de Sr administrada (2,95 mmol).

A ASC corresponde à área sob a curva do gráfico concentração x tempo após 240 minutos, expressa em $\mu\text{mol.L}^{-1}.\text{min}$.

3.3 Análise estatística

A análise estatística foi realizada pelo programa *Statistical Package for the Social Science* (SPSS) versão 19.0 (SPSS Inc, Chicago, Illinois, EUA). As características basais dos grupos foram descritas por médias e desvios padrão (DP). Todas as variáveis foram submetidas ao teste de Kolmogorov Smirnov para avaliação da normalidade de distribuição dos dados. O teste T de *Student* foi utilizado para comparação entre os dois grupos.

A fração de estrôncio absorvida (FAD) em cada tempo (30, 60, 120 e 240 minutos) e a ASC de pacientes SUF e DEF foram comparados pelo teste T de *Student* não pareado. Para a avaliação do grupo DEF antes e após tratamento, foi utilizado o teste T de *Student* pareado, comparando-se FADs e ASC. As correlações entre as variáveis foram estabelecidas utilizando-se o coeficiente de correlação de Pearson.

Para a comparação do comportamento do PTH ao longo do teste, em cada paciente, foram calculadas as variações durante o teste em valores absolutos e percentagens de variação. O valor mínimo do PTH (nadir) foi subtraído do valor inicial (tempo 0) para se calcular a variação absoluta. O valor encontrado foi convertido em percentagem do valor inicial. Esses valores foram comparados entre SUF e DEF utilizando-se o teste T de *Student*. Para avaliação do grupo DEF antes e após tratamento utilizou-se o teste T de *Student* pareado. A comparação entre os valores de PTH ao longo do teste (tempos 0, 30, 60, 120 e 240 minutos) foi realizada através da ANOVA com medidas repetidas entre DEF e SUF e também entre DEF antes e após tratamento com colecalciferol.

Todos os testes foram bicaudais e o erro tipo 1 foi estabelecido em 5%.

4. Resultados

A Tabela 1 mostra as características das pacientes. Os dois grupos, DEF e SUF, eram semelhantes, exceto por níveis de 25OHD, 1,25(OH)₂D e dose de colecalciferol em uso.

Tabela 1- Características das pacientes participantes do estudo

Característica	SUF N=25 (média ± DP)	DEF N=25 (média ±DP)	P	Valores de referência
Idade (anos)	68,56 ±7,78	68,40 ±6,49	0,937	NA
Peso (Kg)	59,98 ±8,47	62,87 ±8,41	0,231	NA
Altura (m)	1,51 ±0,05	1,52 ± 0,05	0,891	NA
IMC (kg/m²)	26,03 ±3,14	27,44 ± 3,46	0,154	20-25
25OHD (ng/mL)	39,4±7,3	15,4 ± 5,4	<0,001*	20,0-150,0
Albumina (g/dL)	4,18 ± 0,27	4,26 ± 0,27	0,33	3,5-5,2
Cálcio Total (mg/dL)	9,26 ±0,44	9,14 ±0,44	0,34	8,6-10,2
Creatinina (mg/dL)	0,72 ± 0,12	0,71 ±0,12	0,836	0,5-0,9
P (mg/dL)	3,51 ±0,51	3,47 ±0,49	0,758	2,5-4,5
PTH (pg/mL)	62,28 ± 18,79	73,87 ± 37,5	0,174	15,0-65,0
Dose D₃¹ (IU/d)	1712,4 ± 724,8	808,76 ± 689,5	<0,001*	NA
Sr Basal (µmol/L)	0,54 ± 0,3	0,52 ± 0,31	0,823	NA
1,25(OH)₂D (pg/mL)	36,3 ± 10,2	24,97 ± 4,63	<0,001*	18,0-78,0

¹Dose diária média de D3 em uso nos últimos 3 meses

*P<0,05

Apesar de ter sido excluída a possibilidade de hiperparatireoidismo primário pela dosagem de cálcio sérico normal na inclusão dos estudo, chama a atenção os níveis elevados de PTH nos dois grupos.

Foi encontrada correlação positiva entre a dose de colecalciferol em uso e 25OHD (r=0,462 p=0,001). O PTH correlacionou-se negativamente com a dose de colecalciferol em uso (r=-0,357 p=0,01) e com a 25OHD (r=-0,271 p=0,05). Houve

correlação entre 25OHD e 1,25(OH)₂D ($r=0,573$ $p<0,001$). Excluindo-se desta análise as voluntárias com PTH elevado (hiperparatiroidismo secundário), essa correlação mostrou-se ainda mais evidente ($r=0,670$ $p<0,001$). Concentrações de 1,25(OH)₂D também se correlacionaram com a dose de colecalciferol em uso ($r=0,335$ $p=0,017$) e com FAD 120 ($r=0,305$ $p=0,033$).

Embora todas as voluntárias, independentemente dos status de vitamina D, apresentassem concentrações de 1,25(OH)₂D nos valores de referência descritos para o método (19,4 a 55,7pg/mL), houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos SUF (36.3 ± 10.2 pg/mL) e DEF (24.97 ± 4.63 pg/mL - $p<0,001$), que desapareceu após tratamento da deficiência (36.3 ± 10.2 x $34,62 \pm 9,14$ pg/mL - $p=0,547$) (Tabela 1 e Figura 2).

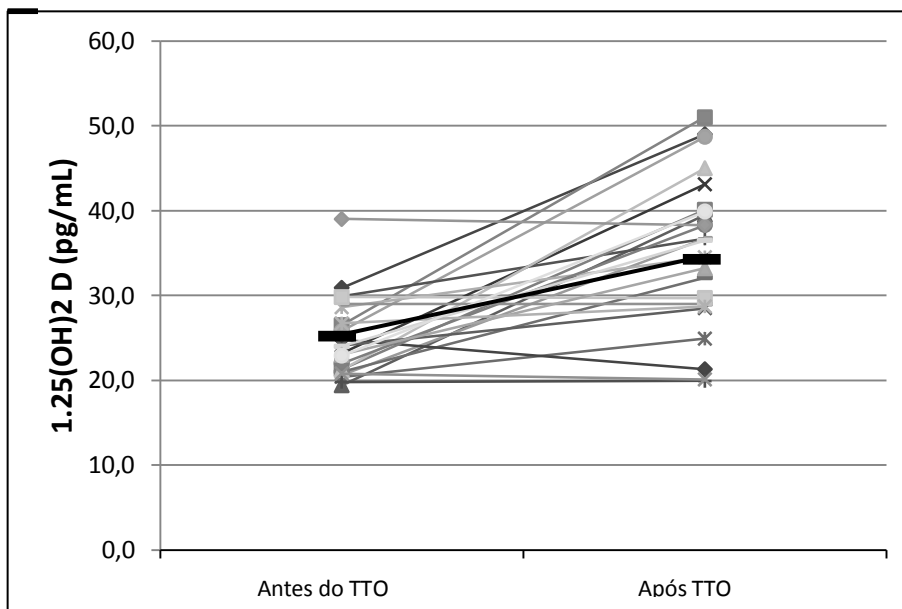


Figura 2- Evolução dos níveis de 1,25(OH)₂D no grupo DEF antes e após tratamento. As barras horizontais representam a média em cada grupo.

O PTH foi semelhante para os grupos SUF e DEF ($62,3 \pm 18,8$ x $73,9 \pm 37,5$ pg/mL - $p=0,174$), entretanto, após tratamento do grupo DEF, houve redução significativa de seus valores ($73,9 \pm 37,5$ pg/mL x $58,2 \pm 20,1$ pg/mL - $p=0,006$), como poder ser verificado na Figura 3.

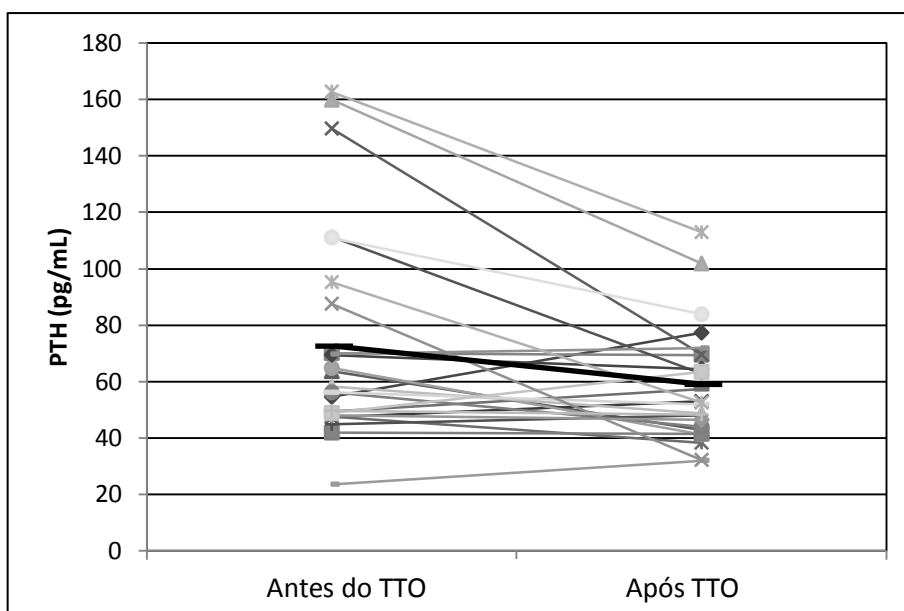


Figura 3- Comportamento do PTH no grupo DEF antes e após tratamento. A barra horizontal em cada coluna representa a média do grupo.

A absorção intestinal de Sr não diferiu entre os grupos DEF e SUF (Figura 4).

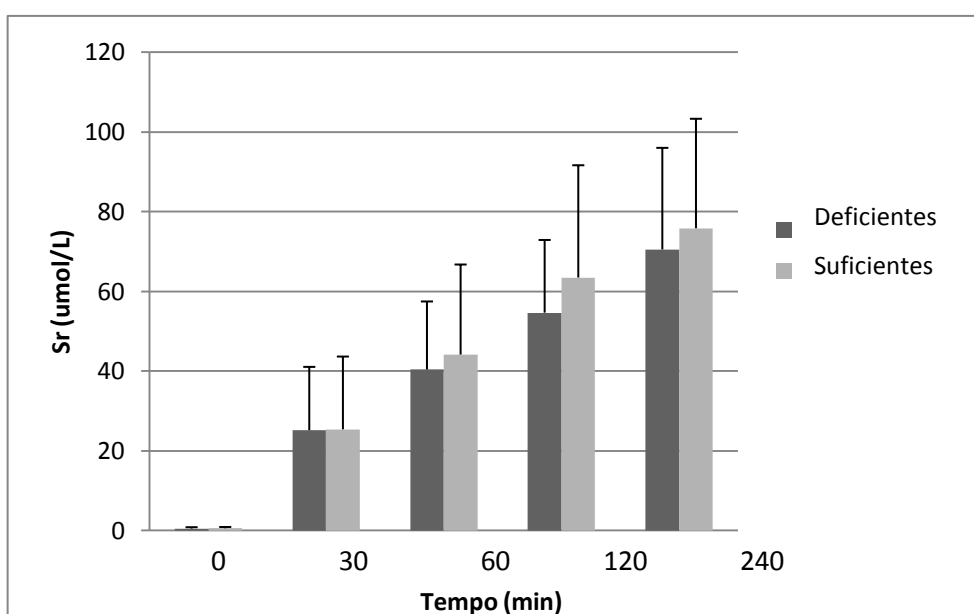


Figura 4 - Média e DP das concentrações de Sr encontradas nos grupos DEF e SUF

As curvas de absorção de Sr foram semelhantes nos três grupos (Figura 5).

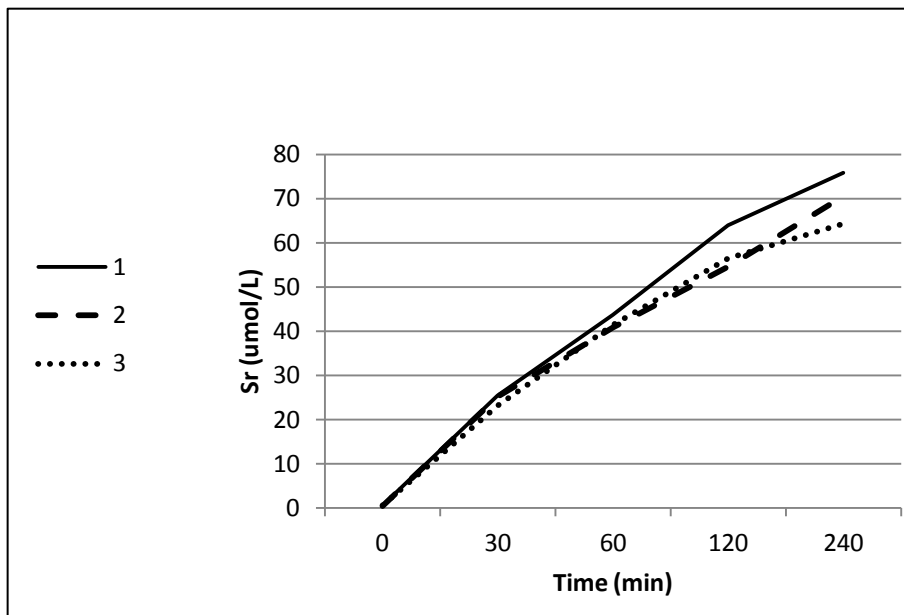


Figura 5 - Curvas das concentrações médias de Sr encontradas durante o teste nos três grupos: 1 (SUF); 2 (DEF antes do tratamento) e 3 (DEF após tratamento)

A absorção de Sr foi semelhante nos grupos, independentemente da variável utilizada para avaliação (Figuras 6,7 e 8).

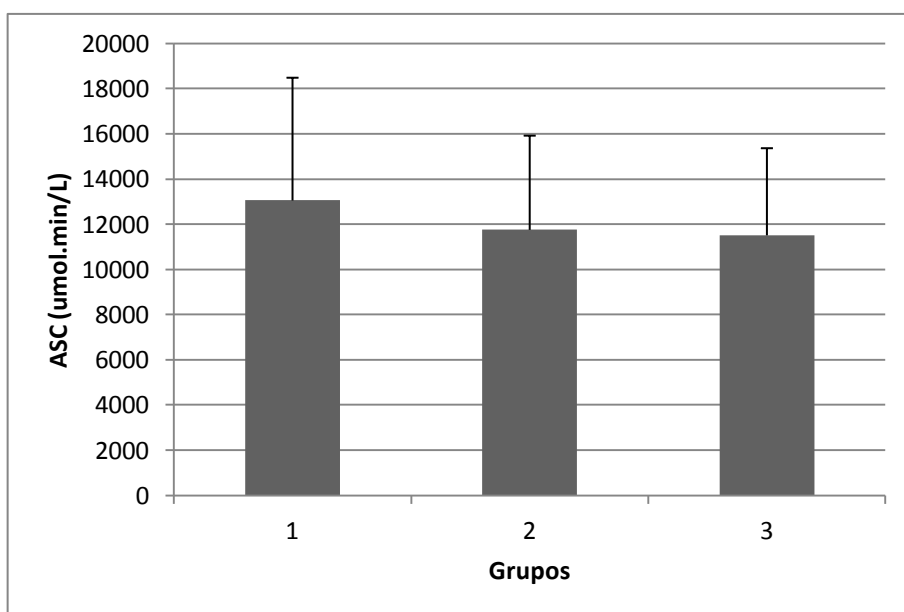


Figura 6 Área total sob a curva (média e DP) encontrada durante o teste nos três grupos: 1 (SUF); 2 (DEF antes do tratamento) e 3 (DEF após tratamento).

Não foram encontradas diferenças significativas entre DEF e SUF na FAD (em nenhum dos tempos do teste - 30, 60, 120 ou 240 min) ou na ASC, como pode ser verificado nas Figuras 6 e 7.

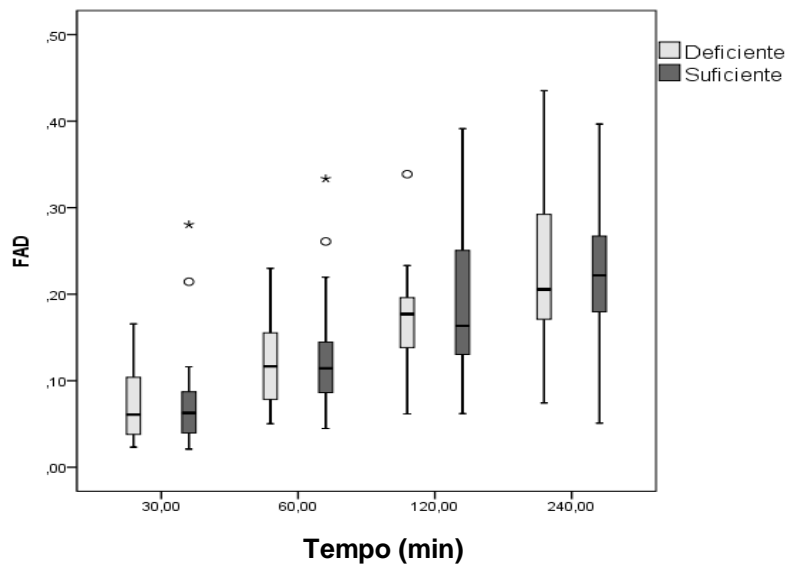


Figura 7- Fração absorvida da dose de Sr (FAD) em pacientes DEF e SUF ao longo dos 240 minutos do teste.

Também não foram encontradas diferenças ao se avaliar o grupo DEF antes e após tratamento. O tratamento do grupo DEF não resultou em aumento da absorção de Sr, o que foi ilustrado nas Figuras 5,6 e 8.

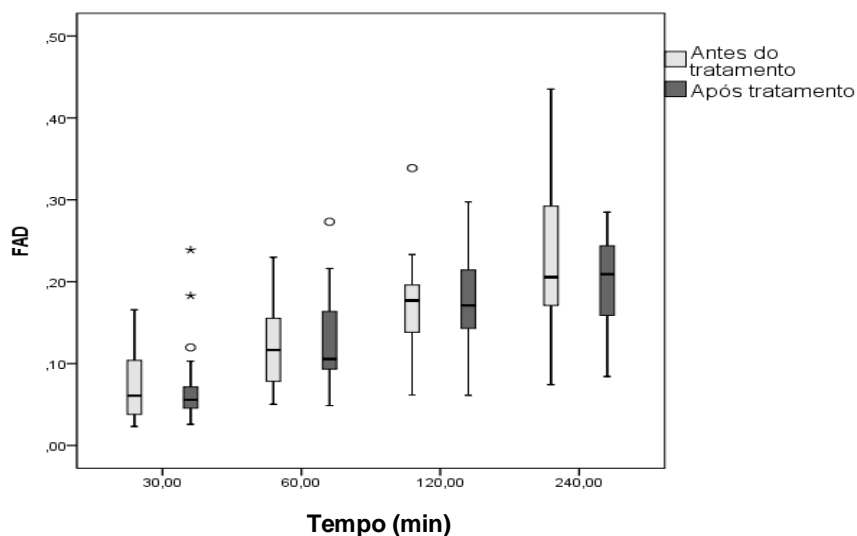


Figura 8 - Fração de absorção (FAD) no grupo DEF antes e após tratamento

A maioria das pacientes (48/50) apresentou queda dos valores de PTH após a ingestão de Sr, seguida de recuperação. A média de queda do PTH foi de $18,0 \pm 13,1$ pg/mL em valores absolutos, o que corresponde a $25,7 \pm 13,0\%$ (Tabela 2). A magnitude da queda do PTH não diferiu entre os grupos DEF e SUF, avaliando-se os valores absolutos ($18,6 \pm 12,9$ x $17,3 \pm 14,8$ pg/mL $p=0,752$) ou a percentagem de queda ($27,7 \pm 13,0$ x $23,8 \pm 12,9\%$ $p=0,285$), respectivamente. A avaliação do grupo DEF antes e após tratamento também não mostrou diferença significativa nas concentrações ($17,3 \pm 14,8$ x $16,0 \pm 11,0$ pg/mL; $p=0,633$) ou no percentual de queda ($23,8 \pm 12,9$ x $26,6 \pm 11,5\%$ $p=0,320$), respectivamente (Tabela 2).

Tabela 2 - Evolução dos valores de PTH durante o teste de sobrecarga oral com Sr.

Variável	n	Mínimo	Máximo	Média	Desvio padrão
SUF					
PTH 0 (pg/mL)	25	37,7	107,8	62,3	18,8
PTH 30 (pg/mL)	25	25,3	83,1	49,7	14,2
PTH 60 (pg/mL)	24	28,0	70,1	46,1	12,14
PTH120 (pg/mL)	25	31,0	82,9	49,1	13,1
PTH 240 (pg/mL)	25	32,7	96,8	52,9	16,5
Diferença (absoluto) (pg/mL)	25	2,7	56,1	18,6	12,9
Delta (% queda)	25	7,2	62,9	27,7	13,0
DEF ANTES DO TTO					
PTH 0 (pg/mL)	24	23,6	162,7	74,1	38,4
PTH 30 (pg/mL)	25	19,0	178,9	64,2	38,6
PTH 60 (pg/mL)	25	18,2	183,3	61,1	35,9
PTH 120 (pg/mL)	25	18,1	187,6	63,8	38,0
PTH 240 (pg/mL)	25	20,3	195,5	69,3	39,0
Diferença (absoluto)(pg/ml)	25	0,0	63,5	17,3	14,8
Delta (%queda)	25	0,0	42,8	23,8	12,9
DEF APÓS TTO					
PT PTH 0 (pg/mL)	25	32,07	112,90	58,24	20,13
PT PTH 30 (pg/mL)	25	24,06	98,59	48,11	18,81
PT PTH 60 (pg/mL)	25	18,10	87,06	45,31	16,40
PT PTH 120 (pg/mL)	25	24,48	91,79	48,44	16,28
PT PTH 240 (pg/mL)	25	24,69	104,20	54,08	18,05
PT Diferença (absoluto) (pg/mL)	25	2,69	58,17	15,96	10,97
PT Delta	25	6,32	57,14	26,56	11,49

PT após tratamento com colecalciferol

A maioria das pacientes atingiu o nadir do PTH até 60 minutos (68%) (Figura 9). Vinte e quatro por cento das pacientes (12/50) alcançaram o nadir com 30 minutos, 44% (22/50) com 60 minutos, 22% (11/50) com 120 minutos e 6% (3/50)

com 240 minutos (Figura 9). Dezesesseis por cento das pacientes (8/50) apresentaram valores finais de PTH maiores que os valores iniciais. Apesar da aparente tendência a um nadir de PTH mais precoce nas pacientes DEF (Figura 9), não houve associação estatisticamente significativa entre o status de vitamina D e o nadir de PTH mais precoce ou mais tardio.

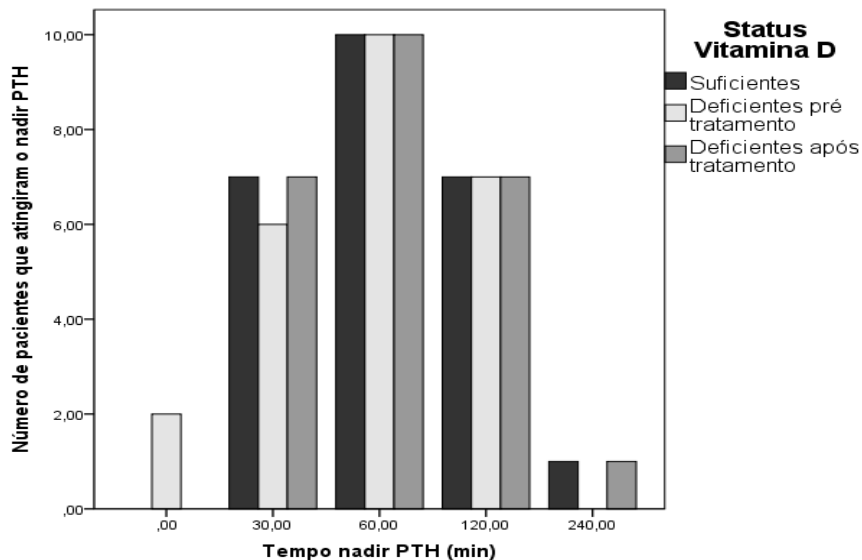


Figura 9 - Distribuição do tempo de nadir do PTH entre as pacientes SUF e DEF antes e após tratamento.

Como o PTH foi dosado em vários tempos (0,30,60,120 e 240 min), além da comparação entre as variações em cada teste, foi realizada avaliação das múltiplas medidas de PTH durante o teste. A comparação ao longo dos cinco momentos foi realizada através de ANOVA medidas repetidas. Ao avaliar os grupos DEF e SUF, observou-se que não havia efeito de interação entre eles ($p=0,656$). No Gráfico de evolução das médias de PTH ao longo do teste, observa-se que as retas são praticamente paralelas (Figura10). Verificou-se que o PTH variava significativamente ao longo do tempo ($p<0,001$), entretanto essa variação não diferiu entre os dois grupos ($p=0,10$).

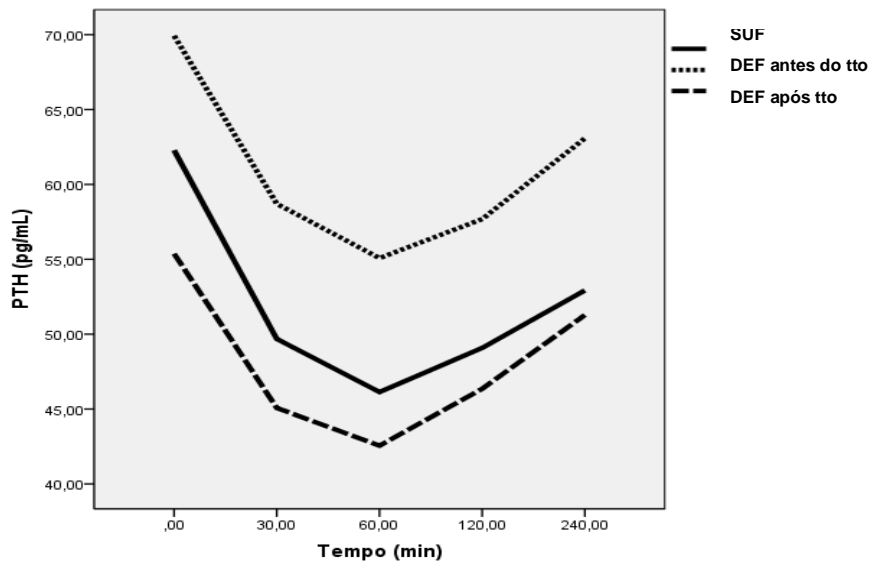


Figura 10 - Comportamento do PTH ao longo da sobrecarga de Sr em pacientes suficientes (SUF) e deficientes (DEF) antes e após tratamento com colecalciferol

O ANOVA medidas repetidas também foi utilizado para avaliar o grupo DEF antes e após o tratamento. O comportamento do PTH foi o mesmo durante o teste nos dois grupos. Também não foi encontrada interação antes do tratamento e após o tratamento ($p=0,951$). As curvas encontradas não se interceptam e são paralelas. O PTH é maior no grupo deficiente em todos os tempos avaliados (Figura 10). O PTH variou ao longo do tempo ($p<0,001$) e houve diferença estatisticamente significativa entre os valores pré-tratamento e pós-tratamento ($p=0,011$), com valores de PTH significativamente menores pós-tratamento.

Curiosamente, as duas pacientes que não apresentaram queda do PTH no teste de sobrecarga eram pacientes DEF em vitamina D que, após correção, evoluíram com hipercalcemia e receberam diagnóstico de hiperparatiroidismo primário, uma imediatamente após a correção e a outra após um ano de seguimento. Houve uma terceira paciente no grupo DEF na qual foi detectado hiperparatiroidismo primário após a reposição de vitamina D. Entretanto ela apresentou comportamento semelhante ao do restante de grupo, com queda do PTH diante da sobrecarga oral de Sr.

5. Discussão

Este é o primeiro estudo que descreve a influência do status de vitamina D na absorção intestinal do ranelato de estrôncio em mulheres pós-menopausadas portadoras de osteopenia ou osteoporose. Trata-se da população-alvo para esta medicação, uma vez que a redução do risco de fraturas vertebrais e não vertebrais, no grupo, já foi demonstrada (27,28). O grupo também possui maior risco para deficiência de vitamina D, pois pessoas idosas têm menor exposição solar e menor capacidade cutânea de sintetizar vitamina D (41,48,49). Os resultados, entretanto, não revelaram redução na absorção do ranelato de estrôncio na situação de deficiência de Vitamina D, demonstrando que este não deve ser um fator limitante para a obtenção dos efeitos terapêuticos do Sr durante o tratamento da osteoporose.

O único estudo prévio que avaliou a relação entre vitamina D e Sr não teve como objetivo investigar os detalhes específicos da absorção de Sr. Na verdade, o mineral foi utilizado como uma maneira indireta de avaliar a absorção de Ca. Khan et al não encontraram alterações na absorção de Sr antes e após a injeção intramuscular de 600.000UI de vitamina D₃ em uma população adulta. A administração de dose única aumentou significativamente os níveis de 25OHD e houve tendência à diminuição do PTH em voluntários com baixos níveis de 25OHD, mas não houve alteração na absorção de Sr (50). O sal utilizado foi o cloreto de estrôncio (SrCl₂), em dose menor que a utilizada no presente estudo (4,8 mg/kg, correspondente a 1,08 mmol de Sr para uma pessoa de 60 kg), entretanto foram atingidos níveis séricos de Sr semelhantes aos encontrados no presente estudo. Kahn et al, para avaliação da absorção de Sr, utilizaram a ASC. A aplicação intramuscular de colecalciferol elevou as concentrações séricas de 25OHD de 17,4 ± 7,6 para 26,4 ± 7,6 ng/mL (p<0,001), entretanto não foi encontrada diferença na ASC. Neste estudo, as concentrações de 25OHD no grupo DEF antes do tratamento foram de 15,4±5,4 e 40,0±8,9 ng/mL, após tratamento com colecalciferol, muito semelhante à média do grupo SUF, que era de 39,4±7,3 ng/mL. As pacientes SUF e DEF, após tratamento, apresentavam concentrações de 25OHD maiores que no estudo citado. Kahn et al. concluíram que níveis de 25OHD não se relacionam diretamente com a absorção intestinal de Sr, o que está de acordo com os achados deste trabalho sobre status de vitamina D e absorção de ranelato de Sr.

A avaliação da absorção intestinal de Sr por um teste de sobrecarga oral pode ser influenciada por diversos fatores. Estudos em animais e humanos mostraram diferenças na absorção entre fontes sólidas e líquidas (47,51,52). A maioria dos trabalhos descritos utilizou o Sr dissolvido em água (22,50,53,54-56). Outros realizaram a administração concomitante com o café da manhã. A refeição foi padronizada para apresentar o mesmo conteúdo de Ca, uma vez que, no intestino, há absorção preferencial deste sobre Sr (47,53,54,57). A administração associada a alimentos reduziu a FAD Sr em cada tempo e a variância inter e intraindividual, mas as formas das curvas de absorção não sofreram alterações (53,54). Se, por um lado, a escolha do jejum e a administração de Sr dissolvido apenas em água poderiam motivar discussões sobre o efeito modulador de uma refeição no tempo de trânsito através do estômago e intestino, por outro lado não há uniformidade entre as diversas refeições descritas na literatura (53,54,57). Além disso, as recomendações de administração terapêutica de ranelato de estrôncio sugerem a administração ao deitar-se, com intervalo mínimo de 2 horas após a última refeição. A realização do teste nessas condições seria bem mais difícil, entretanto o jejum proporciona condições de absorção semelhantes. Dessa forma, optou-se pela realização do teste em jejum.

Outro fator que poderia interferir na absorção de Sr é a presença de alterações gastrointestinais. Todas as pacientes foram submetidas a cuidadosa anamnese sobre hábitos intestinais e história prévia de cirurgias abdominais. Além disso, foi realizada pesquisa de anticorpos antitransglutaminase para excluir doença celíaca. Não foram encontrados resultados positivos.

Os testes de sobrecarga oral de Sr previamente descritos utilizaram doses de 1,05 a 5,0 mMol de Sr elementar. (22,45,50,53-59). O teste deste trabalho foi realizado com 2,95 mMol de Sr, o que é encontrado em 1gr de ranelato de Sr (60). Apesar da ampla diferença de doses administradas, as concentrações de Sr encontradas nos diversos testes foram semelhantes (50,56,61) (Figura 3). Esses achados poderiam refletir a saturação dos mecanismos de absorção já com doses menores de Sr.

A maioria dos estudos que avaliou a absorção de Sr realizou apenas um teste (45,50,53,55,57-59). Nas avaliações nas quais o teste foi repetido nas mesmas

condições, variações intraindividuais significativas (10-30%) foram encontradas (22,54,56). Na averiguação desta pesquisa, a avaliação o teste foi realizada uma vez em cada condição (SUF e DEF antes e após tratamento) tornando impossível a avaliação de coeficientes de variação.

Todos os testes previamente realizados para avaliação da absorção de Sr utilizaram cloreto de estrôncio hexahidratado (SrCl_2) (22,45,50,53-59). O objetivo era utilizar o Sr como uma forma indireta de avaliar a absorção de Ca. O presente estudo visa a estudar a influência do status de vitamina D na absorção de ranelato de estrôncio, medicação utilizada no tratamento de osteoporose. É sabido que diferentes ânions podem interferir na solubilidade e conseqüentemente na absorção de um sal (47). Apesar do uso de um sal diferente, ranelato de estrôncio e não cloreto de estrôncio, os resultados encontrados são muito semelhantes aos previamente descritos na literatura com o uso do cloreto (22,47,50,53-57).

O limiar de 25OHD utilizado para definir deficiência (menor que 20ng/mL) e suficiência (maior que 30 ng/mL) foi estabelecido de forma a minimizar discussões. Há divergências na literatura a respeito das concentrações adequadas. A Sociedade Americana de Endocrinologia considera 30 ng/mL o ponto de corte adequado, baseando-se na correlação PTH e 25OHD: níveis menores da vitamina associam-se a aumento do hormônio. A elevação de 25OHD associa-se a queda do PTH até a formação de um platô, o que ocorre com níveis de 25OHD próximos a 30 ng/mL (38). Assim concentrações entre 20-30 ng/mL são consideradas insuficiência, níveis menores que 20 ng/mL são considerados deficiência e níveis maiores que 30 ng/mL, suficiência (38). Dessa forma os dois grupos apresentam, inquestionavelmente, diferentes status de vitamina D.

A absorção de Sr foi previamente estudada principalmente devido a sua homologia com a absorção de Ca. Estudos em animais, usando Ca e Sr, mostraram o mesmo padrão de fluxo (32,46). Papworth e Patrick concluíram que Ca e Sr utilizam o mesmo carreador com maior afinidade pelo Ca (46). Milson e colaboradores encontraram correlação importante entre a absorção de Sr (45) e de Ca em voluntários normais, pacientes com doenças gastrointestinais e hiperparatiroidismo (53). Vários autores usaram o Sr como forma de avaliar a

absorção de Ca, com base na premissa de que eles utilizam as mesmas vias para absorção (50,53,55-57).

A absorção de Ca através das células intestinais pode ocorrer por dois mecanismos. Existe um mecanismo ativo transcelular que predomina no duodeno e um mecanismo passivo, associado ao gradiente de concentração, que ocorre nos demais segmentos do intestino. O calcitriol é essencial para a absorção ativa do cálcio, pois participa das três etapas desse processo. O mecanismo ativo predomina quando a dieta é pobre em Ca (47,62). O segundo mecanismo principal da absorção de Ca e, presumivelmente, de outros minerais é a via paracelular, por gradiente de concentração. A quantidade de mineral absorvido é determinada pela solubilidade do sal, pela permeabilidade paracelular ao íon e pelo tempo de trânsito do quilo em determinada região intestinal (32,46,47,56).

Apesar de a vitamina D ativa participar de todas as etapas da absorção ativa de cálcio, a relação entre a concentração de 25OHD e a absorção do elemento é controversa. Ao avaliar a absorção de Ca em mulheres pós-menopausa, tratadas ou não previamente com colecalciferol, Heaney e colaboradores encontraram aumento na absorção de Ca no grupo tratado, embora não tenha sido encontrada relação entre as concentrações de 25OHD e a absorção de Ca. Foram avaliadas 24 mulheres em cada grupo. Foi utilizado o Ca radioativo e a quantificação foi realizada através da área sob a curva. Não foram avaliadas as concentrações de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ (45). Barger-Lux e colaboradores, investigando os fatores que interferiam na absorção intestinal de Ca, encontraram correlação positiva entre as concentrações de 25OHD e a absorção do mineral (63). Outros autores, entretanto, não encontraram os mesmos resultados. Graff et al não encontraram diferença significativa na fração absorvido de Ca entre crianças saudáveis ou com raquitismo carencial clinicamente manifesto, apesar das baixas concentrações de 25OHD nas crianças doentes (64). A avaliação de 461 mulheres pós-menopausadas por Need e Nordin não demonstrou correlação entre a absorção de radiocálcio e 25OHD sérico (65). Aloia e colaboradores, também utilizando radiocalcio, não encontraram relação entre concentrações de 25OHD e a eficiência na absorção de Ca, ao avaliar mulheres saudáveis entre 20 e 80 anos (59). Esses estudos sugerem que baixos níveis de 25OHD não se correlacionam com prejuízo na absorção de Ca. Need e

Nordin discutiram esse ponto e consideraram incorreta a premissa de que a hipovitaminose D em qualquer grau causa má absorção de Ca (65). Segundo eles, pequenas doses de vitamina D seriam suficientes para manter a adequada absorção intestinal do elemento. A presumida queda nos níveis de cálcio ionizado verificada nos pacientes portadores de hipovitaminose D não se associava a deficiência na absorção do íon, mas a ausência dos efeitos calcêmicos da vitamina D sobre o osso, (65) como foi previamente descrito (66). Ao suplementar ratos deficientes com doses crescentes de vitamina D, verificou-se elevação gradual do Ca. A absorção intestinal de Ca, uma vez normalizada com uma pequena dose de vitamina D (10UI), não apresentou aumento adicional com a administração de doses maiores (66). Essas observações reforçam a premissa de que baixas doses de vitamina D são suficientes para produzir ação total na absorção de minerais, porém doses muito mais elevadas são necessárias para obter todos os potenciais benefícios para a saúde óssea. Portanto os achados desta pesquisa estão em concordância com essa teoria.

Embora o diagnóstico de hiperparatireoidismo primário tenha sido excluído por dosagem sérica de cálcio normal na inclusão do estudo, foram encontradas concentrações elevadas de PTH em ambos os grupos. No grupo deficiente tal achado poderia ser atribuído a hiperparatireoidismo secundário à deficiência da vitamina D. É sabido que baixas concentrações de 25OHD associam-se a elevação compensatória do PTH (33,35,38). Entre as suficientes, a causa da elevação do PTH é incerta. É possível que algumas delas poderiam ter sido deficientes com hiperparatireoidismo secundário no passado já submetidas a correção dos níveis de 25OHD. Na prática clínica observamos que, muitas vezes, as concentrações de PTH demoram a se normalizar após a correção da deficiência. Portanto as pacientes poderiam ter sido recrutadas em um momento no qual já se encontravam plenas em vitamina D entretanto ainda sem a normalização das concentrações de PTH. É importante destacar que a presença de insuficiência renal, outra possível causa de hiperparatireoidismo secundário também foi excluída.

Todas as pacientes apresentavam concentrações de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ nos valores de referência, independentemente do status de vitamina D. O achado reforça a ideia de que, na ausência de insuficiência renal, a deficiência de vitamina D deve ser

muito acentuada para causar deficiência de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ (59,65). Aparentemente, na presença de baixos níveis de 25OHD, o hiperparatiroidismo secundário é desencadeado, o que aumenta a conversão de 25OHD em $1,25(\text{OH})_2\text{D}$, agindo como um mecanismo protetor contra o comprometimento da absorção de Ca e também do Sr. Isso foi sugerido quando nós, neste estudo, verificamos que a correlação entre 25OHD e $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ se tornou maior quando as pacientes de valores elevados de PTH foram excluídas da análise. Dessa forma, enquanto o coeficiente de correlação entre 25OHD e $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ das voluntárias de ambos os grupos analisadas conjuntamente foi de $r=0,573$, a correlação mostrou-se ainda mais evidente ($r=0,670$) quando as portadoras de hiperparatiroidismo secundário ($\text{PTH}>65$ pg/mL) foram excluídas. Isso sugere que as concentrações de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ são uma função direta da presença do substrato 25OHD, especialmente para status de vitamina D adequado e, conseqüentemente, com valores de PTH normais. Em concentrações mais baixas de 25OHD, o hiperparatiroidismo secundário é desencadeado, o que impede a queda de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$. Como esse é o metabólito ativo, a absorção intestinal de íons (como o Sr) é mantida, mesmo com concentrações baixas de 25OHD. Dessa forma, a suplementação com colecalciferol é importante para manter concentrações adequadas de 25OHD e $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ e para evitar a elevação secundária do PTH e os efeitos deletérios associados, entretanto não há efeito direto sobre a absorção intestinal de metais alcalinoterrosos, como o Sr e Ca. É importante, entretanto, ter em mente que a possibilidade de reatividade cruzada nas dosagens de 25OHD e $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ não pode ser excluída. Apesar das afirmações do fabricante do kit de dosagem de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ afirmarem que não existe reatividade cruzada tal possibilidade não pode ser excluída uma vez que as diferenças bioquímicas entre as duas moléculas são pequenas e a 25OHD circula em níveis 1.000 vezes maiores que a $1,25(\text{OH})_2\text{D}$.

O estudo da absorção de Sr sempre foi associado às suas semelhanças com o Ca. Apesar de Dumont et al terem sugerido que o transporte de Sr era exclusivamente passivo (67), outros autores demonstraram evidências de transporte intestinal ativo e de um mecanismo comum com o Ca (23,46,47,54). Bolscher e colaboradores mostraram um efeito estimulatório de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ sobre a absorção de Sr (56). O trabalho avaliou a absorção de Sr em voluntários saudáveis, antes e depois do tratamento com calcitriol oral, e encontrou aumento da absorção de Sr

medido pelo FAD 240 e ASC. Mas o estudo não foi capaz de demonstrar correlação entre níveis de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ e absorção de Sr. Neste trabalho, $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ correlacionou-se positivamente com FAD120. Apesar de a correlação ter sido encontrada apenas em uma das variáveis analisadas, o achado sugere a possibilidade de efeito positivo de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ na absorção de Sr.

A maioria das pacientes apresentou queda do PTH após sobrecarga oral de Sr. A secreção de PTH é regulada pelas concentrações séricas de Ca através do CaSR (1,15). Trata-se de um receptor acoplado à proteína G. O papel fisiológico primário do CaSR é a manutenção de concentrações constantes de Ca, através de ajustes contínuos da liberação de PTH pelas células principais da paratireoide, que são altamente sensíveis a mudanças discretas no cálcio iônico extracelular (1,15). Já foi demonstrado que o CaSR expresso na superfície celular é encontrado principalmente como um dímero. Os monômeros são ligados por pontes dissulfeto envolvendo resíduos de cisteína. Assim como outros receptores ligados à proteína G, a ativação do CaSR é capaz de ativar múltiplos tipos de proteínas G. Como consequência, um leque de respostas celulares são desencadeadas, incluindo estímulo à fosfolipase C (PLC), produção de inositol 3 fosfato (IP_3), estímulo à via MAPK (*Mitogen-activated protein Kinase/ERK(Extracellular signal-regulated kinases)*), liberação de cálcio intracelular, ativação de canais de cátions não seletivos e inibição de adenilato ciclase (15). A modulação da secreção de PTH é mediada por mecanismos ainda pouco compreendidos, que aparentemente envolvem componentes do citoesqueleto, como F-actina e caveolina. A diminuição das concentrações séricas de Ca leva a aumento da secreção de PTH (1,15). O aumento do PTH resultante normaliza as concentrações de Ca por suas ações nos rins, ossos e, indiretamente, intestinos. O efeito inverso na secreção de PTH é observado quando a elevação das concentrações de Ca iônico é detectada pelo CaSR, levando à diminuição da liberação de PTH (1,15). Diferente das ações na secreção de PTH, a ativação do CaSR pelo Ca_i tem efeito estimulatório sobre a secreção de calcitonina pelas células C da tireoide (15). Assim, por um refinado mecanismo bidirecional, o CaSR regula a secreção de PTH e calcitonina, apresentando um papel central na manutenção da homeostase do Ca.

Os ligantes do CaSR são normalmente classificados como agonistas ortostéricos (agonistas tipo I), que são capazes de ativar o CaSR diretamente, e

moduladores alostéricos, que se ligam a sítios alostéricos do CaSR e requerem a ligação de um agonista ortostérico ao receptor para induzir efeitos(15,68). O Ca^{2+} é, claramente, o agonista ortostérico primário do CaSR e o único ligante com um incontestável papel fisiológico (69). Outros agonistas ortostéricos incluem cátions divalentes e trivalentes, como Mg^{2+} , Al^{3+} , Sr^{2+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} , Gd^{3+} , Ba^{2+} , e antibióticos aminoglicosídeos. Além dos vários ligantes do CaSR, estudos recentes demonstraram que o pH extracelular também é capaz de modular a atividade do receptor (68,69).

Coulombe et al demonstraram que o Sr é um agonista do CaSR, porém com afinidade menor que o Ca (70). Chattopadhyay et al investigaram a ação do Sr via CaSR em células HEK293 e osteoblastos primários de ratos e demonstraram que tanto o Ca quanto o Sr ativaram o CaSR de forma concentração-dependente (68). A potência relativa do Sr varia com a resposta biológica avaliada. O Sr foi menos potente que o Ca para estimular a formação de IP3 e Ca_i intracelular, mas foi comparável ao Ca no estímulo à fosforilação do ERK e de canal de cátion não seletivo, sugerindo que Ca e Sr têm efeitos diferentes em processos celulares específicos (68). Todos os processos estão envolvidos na modulação da secreção do PTH. Em concentrações fisiológicas de Ca, o Sr induziu ativação adicional do CaSR (68). A cooperação que ocorre entre agonistas do CaSR na ativação do receptor permite que concentrações relativamente baixas de agonistas secundários, como o Sr, tenham efeito pronunciado no CaSR, na presença de concentrações fisiológicas do agonista primário (Ca). Esse efeito provavelmente mediou o comportamento das concentrações de PTH observadas durante a sobrecarga oral de Sr. Após a ingestão, foram atingidas concentrações séricas milimolares de Sr, capazes de ser detectadas pelo CaSR, apesar de 17 vezes menores que as concentrações de Ca. Em concentrações fisiológicas de Ca, a presença de Sr, mesmo em concentrações mais baixas que o Ca, foi suficiente para ativar o CaSR, levando a diminuição da secreção de PTH, (detectada pela queda das concentrações séricas). Essa variação da concentração de PTH resultou em queda do Ca, que, por sua vez, também foi detectada pelo CaSR, motivando a liberação de PTH pelas paratiroides e elevação das concentrações de PTH. Esse é o provável mecanismo que justifica o comportamento do PTH diante da sobrecarga de Sr. No primeiro momento, a presença de Sr em concentrações milimolares é capaz

de ativar o CaSR, levando a inibição da secreção de PTH. A queda do PTH resulta em queda do Ca. Como as concentrações de Ca são finamente controladas, essa alteração é suficiente para desencadear a liberação de PTH pelas paratireoides, justificando a curva de concentração de PTH encontrada durante o teste.

Maresova e colaboradores avaliaram os efeitos das sobrecargas orais de Ca (1.000 mg) e ranelato de estrôncio (2gr) sobre os níveis de PTH de 10 voluntários saudáveis (61). Foi encontrada queda similar do PTH após a ingestão dos dois minerais ($30,01 \pm 8,6\%$ com Ca x $29,3 \pm 15,7\%$ com Sr). O presente estudo descreve queda do PTH de 25,76% após ingestão de 1 gr de ranelato de estrôncio, resultado semelhante (61). Apesar da administração de diferentes doses do composto (1gr durante este estudo x 2 gr no estudo de Maresova) foram obtidas concentrações séricas de Sr também semelhantes. Maresova et al descreveram uma concentração média de 0,052mmol/L aos 120 minutos, ao passo que, no presente estudo, a avaliação encontrou valores médios de 0,059 mmol/L nesse tempo. Assim, a absorção de ranelato de estrôncio foi semelhante entre voluntários saudáveis e mulheres pós-menopausadas. Diferentes doses administradas levaram à mesma concentração sérica, o que pode refletir a saturação dos mecanismos de absorção ativa com doses de 1 gr desse composto nos tempos avaliados.

Houve variações na velocidade de queda do PTH, com algumas pacientes atingido o nadir aos 30 (12/50), 60 (22/50), 120 (11/50) e 240 min (3/50). O status de vitamina D, entretanto, não teve influência no tempo do nadir.

A avaliação das múltiplas medidas mostrou que o PTH variou significativamente ao longo do teste. Houve uma queda, seguida de recuperação, como pode ser visto na Figura 10. Entretanto esse comportamento, durante o teste, não diferiu entre DEF e SUF ($p=0,10$). Ao se comparar o grupo DEF antes e após o tratamento, observou-se que o PTH apresentou níveis significativamente menores após o tratamento ($p=0,011$). O encontro de resultados diferentes entre as duas comparações provavelmente reflete o desenho utilizado: ao se comparar o mesmo indivíduo em dois momentos (antes e após o tratamento), elimina-se o efeito de variações interindividuais, tornando o teste mais robusto para a detecção de diferenças. A comparação entre os grupos DEF e SUF não alcançou significância estatística ($p=0,10$), entretanto apresentou um p com valor baixo. É possível que a

amostra avaliada não tenha tido poder suficiente para detectar diferenças não muito exuberantes. As pacientes SUF apresentavam, ao longo do teste, PTH menor que o das DEF, sem significância estatística. A comparação das DEF antes e após tratamento mostrou que o PTH foi significativamente menor após o tratamento.

Ao se comparar a variação do PTH, durante o teste, nos grupos, não foi observada diferença no comportamento do PTH diante de sobrecarga oral de Sr em pacientes DEF ou SUF (queda de $27,74 \pm 13,01\%$ x $23,75 \pm 12,75\%$; $p=0,285$). Tampouco foram detectadas alterações após tratamento das pacientes DEF ($23,78 \pm 12,86\%$ x $26,56 \pm 11,49\%$ $p= 0,320$). Dessa forma, o status de vitamina D não interferiu na magnitude da queda do PTH após sobrecarga de Sr. Entretanto duas pacientes DEF em vitamina D apresentaram comportamento divergente do grupo com elevação do PTH após ingestão de Sr: houve elevação do PTH após sobrecarga de Sr. O seguimento dessas pacientes mostrou que ambas desenvolveram hiperparatireoidismo primário com elevação do Ca. O achado é compatível com a possibilidade de certa autonomia das glândulas que não responderam com supressão da secreção após sobrecarga de Sr, como glândulas sadias. Já foi demonstrada a diminuição da quantidade de receptores/sensores de cálcio em hiperplasias e adenomas de paratireoide (69), o que também pode ser um dos mecanismos envolvidos. É possível que essas pacientes tenham sido avaliadas em momento intermediário, no qual ainda apresentavam Ca nos limites da normalidade, mas com PTH elevado e não responsivo aos estímulos inibitórios habituais, demonstrando alguma autonomia. Como ambas se encontravam no grupo DEF, receberam tratamento com colecalciferol, até atingir concentrações adequadas de vitamina D. Na repetição do teste, o comportamento encontrado foi semelhante ao das outras pacientes, com queda do PTH (14,4% e 23,9%). Dessa forma, a autonomia mostrou-se somente na vigência de deficiência de vitamina D. As pacientes foram seguidas e evoluíram com elevação do cálcio sérico, configurando o quadro de hiperparatireoidismo primário.

6. Conclusões

O status de vitamina D, classificado de acordo com as concentrações de 25 OH Vitamina D, não foi fator determinante na absorção intestinal do ranelato de estrôncio. A absorção do mineral não diferiu entre mulheres pós-menopausadas com deficiência ou suficiência em vitamina D. O tratamento da deficiência também não resultou em aumento da absorção.

A sobrecarga oral de Sr levou a rápida queda dos níveis de PTH, associado a posterior recuperação em intervalo de horas. Essa resposta é independente do status de vitamina D em pacientes com metabolismo ósseo normal, porém parece estar comprometida nas pacientes com hiperparatireoidismo primário associado à deficiência de vitamina D, mesmo em estágio inicial.

A adequação do status de vitamina D associou-se a aumento da $1,25(OH)_2D$ e queda dos PTH, o que tem efeitos benéficos sobre a saúde óssea.

As concentrações de vitamina D correlacionaram-se com as doses de colecalciferol em uso, o que reforça a necessidade de suplementação de vitamina D nas mulheres pós-menopausadas habitantes de regiões urbanas, mesmo em um país tropical.

7. Referências bibliográficas

1 Lazaretti-Castro M, Brandão CMA, Vieira JGH. Princípios da Fisiologia Óssea e Homeostase Mineral . In Saad MJA, Maciel RMB, Mendonca BB. Endocrinologia. São Paulo: Atheneu; 2007 p 457-476

2 Vokes TJ, Favus MJ Clinical Management of the Patient with Osteoporosis in Robertson PR, Khosla,S. Translational Endocrinology & Metabolism Volume I, Number 1, 2010

3 Site ministério da saúde www.Saude.gov.br

4 Bolland MJ, Grey AB, Gamble GD, Reid IR. Effect of osteoporosis treatment on mortality: a meta-analysis. J Clin Endocrinol Metab. 2010 Mar;95(3):1174-81

5 Lazaretti-Castro M. Osteoporose . In Saad MJA, Maciel RMB, Mendonca BB. Endocrinologia. São Paulo: Atheneu; 2007 p 477-492

6 Camargo MB, Cendoroglo MS, Ramos LR, de Oliveira Latorre Mdo R, Saraiva GL, Lage A, Carvalhaes Neto N, Araújo LM, Vieira JG, Lazaretti-Castro M. Bone mineral density and osteoporosis among a predominantly Caucasian elderly population in the city of São Paulo, Brazil. Osteoporos Int. 2005;16(11):1451-60

7 Pinheiro MM, Reis Neto ET, Yang JHK, Machado FS, Omura F, Szejnfeld J, et al. Risk factors for osteoporotic fractures and low bone density in pre and postmenopausal women: The SAo Paulo Osteoporosis Study (SAPOS). Rev Saude Publica. 2010. Jun;44(3):479-85

8 Pinheiro MM, Eis SR Epidemiology of osteoporotic fractures in Brazil: what we have and what we need. Arq Bras Endocrinol Metab. 2010;54(2):164-70

9 Schwartz AV, Kelsey JL, Maggi S, Tuttleman M, Ho SC, Jónsson PV, Poór G, Sisson de Castro JA, Xu L, Matkin CC, Nelson LM, Heyse SP. International variation

in the incidence of hip fractures: cross-national project on osteoporosis for the World Health Organization Program for Research on Aging. *Osteoporos Int.* 1999;9(3):242-53.

10 Castro da Rocha FA, Ribeiro AR. Low incidence of hip fractures in an equatorial area. *Osteoporos Int.* 2003;14(6):496-9.

11 Silveira VA, Medeiros MM, Coelho-Filho JM, Mota RS, Noletto JC, Costa FS, Pontes FJ, Sobral JB, Aguiar RF, Leal AC, Clemente CM. Hip fracture incidence in an urban area in Northeast Brazil]. *Cad Saude Publica.* 2005; 21(3):907-12

12 Komatsu RS, Ramos LR, Szejnfeld VL. Incidence of proximal fêmur fractures in Marília, Brazil. *J Nutr Health Aging.* 2004;8(5):362-7.

13 Clark P, Cons-Molina F, Deleze M, Ragi S, Haddock L, Zanchetta JR, Jaller JJ, Palermo L, Talavera JO, Messina DO, Morales-Torres J, Salmeron J, Navarrete A, Suarez E, Pérez CM, Cummings SR. The prevalence of radiographic vertebral fractures in Latin American countries: the Latin American Vertebral Osteoporosis Study (LAVOS). *Osteoporos Int.* 2009; 20(2):275-82. doi: 10.1007/s00198-008-0657-4

14 Brown EM, Pollak M, Chou YH, Seidman CE, Seidman JG, Hebert SC. Cloning and functional characterization of extracellular Ca(2+) sensing receptors from parathyroid and kidney. *Bone.* 1995; 17(2 S):7S-11S.

15 Lília D'Souza-Li The Calcium-Sensing Receptor and Related Diseases *Arq Bras Endocrinol Metab* 2006;50 (4):628-639

16 Herbert S, Brown E, Harris W. Role of the Ca^{2+} sensing receptor in divalent mineral ion homeostasis *The Journal of Experimental Biology* 1997; 200: 295–302

17 Nielsen SP. The biological role of strontium *Bone* 2004; 35: 583– 588

18 Dolphin G, Eve IS. The Metabolism of Strontium in Adult Humans

Phys. Med. Biol., 1963; 8 (2): 193-203

19 Worker NA, Migicovsky B Effect of Vitamin D on the Utilization of Beryllium, Magnesium, Calcium, Strontium and Barium in the Chick *JN 57 J. Nutrition* 1956; 74: 490-494

20 Wasserman RH Strontium as a Tracer for Calcium in Biological and Clinical Research *Clinical Chemistry* 1998; 44(3):437-9

21 Marie PJ, Ammann P, Boivin G, Rey C Mechanisms of Action and Therapeutic Potential of Strontium in Bone *Calcif Tissue Int* 2001; 69:121–129

22 Sips AJAM, Van der Vijgh WJF, Barto R, Netelenbos JC Intestinal Strontium absorption: from bioavailability to validation of a simple test representative for intestinal calcium absorption *Clinical Chemistry* 1995; 41(10): 1446 -1450

23 Vezzoli G, Baragetti I, Zerbi S, Caumo A, Soldati L, Bellinzoni P, Centemero A, Rubinacci A, Moro GL, Bianchi G Strontium absorption and excretion in

normocalciuric subjects: relation to calcium metabolism *Clinical Chemistry* 1998;44:3
586–590

24 Canalis E, Hott M, Deloffre P, Tsouderos Y, Marie PJ. The divalent strontium salt S12911 enhances bone cell replication and bone formation in vitro. *Bone* 1996;18:517-23

25 Dahl SG, Allain P, Marie PJ, Mauras Y, Boivin G, Ammann P, Tsouderos Y, Delmas PD, Christiansen C Incorporation and Distribution of Strontium in Bone 2001; 28(4):446–453

26 Omdahl JL, DeLuca HF. Rachitogenic activity of dietary strontium: distribution of intestinal calcium absorption and 1,25 dihydroxycholecalciferol synthesis. *J Biol Chem* 1972;247:5520– 6

27 Meunier PJ, Roux C, Seeman E, Ortolani S, Badurski JE, Spector TD, Cannata J, Balogh A, Lemmel EM, Pors-Nielsen S, Rizzoli R, Genant HK, Reginster JY The Effects of Strontium Ranelate on the Risk of Vertebral Fracture in Women with Postmenopausal Osteoporosis *N Engl J Med*. 2004; 350(5):459-68

28 Reginster JY, Seeman E, Vernejoul MC, Adami S, Compston J, Phenekos C, Devogelaer JP, Curiel MD, Sawicki A, Goemaere S, Sorensen OH, Felsenberg D, Meunier PJ Strontium Ranelate Reduces the Risk of Nonvertebral Fractures in Postmenopausal Women with Osteoporosis:Treatment of Peripheral Osteoporosis (TROPOS) Study *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 2816–2822

29 Seeman E, Boonen S, Borgström F, Vellas B, Aquino JP, Semler J, Benhamou CL, Kaufman JM, Reginster JY Five years treatment with strontium ranelate reduces

vertebral and nonvertebral fractures and increases the number and quality of remaining life-years in women over 80 years of age. *Bone* 2010 46: 1038–1042

30 Roschger P, Manjubala I, Zoeger N, Meirer F, Simon R, Li C, Fratzl-Zelman N, Misof BM, Paschalis EP, Strelci C, Fratzl P, Klaushofer K Bone Material Quality in Transiliac Bone Biopsies of Postmenopausal Osteoporotic Women After 3 Years of Strontium Ranelate Treatment *J of Bone and Mineral Res* 2010; 25 (4): 891–900

31 Hamdy NAT Strontium ranelate improves bone microarchitecture in osteoporosis *Rheumatology* 2009; 48:1 v9–iv13.

32 Bronner F Calcium Absorption—A Paradigm for Mineral Absorption *J. Nutr.* 1998; 128(5):917-20

33 Saraiva GL, Cendoroglo MS, Ramos LR, Araújo LMQ, Vieira JGH, Maeda SS, Borba VZC, Kunni I, Hasayashi LF, Lazaretti-Castro M Prevalência da Deficiência, Insuficiência de Vitamina D e Hiperparatireoidismo Secundário em Idosos Institucionalizados e Moradores na Comunidade da Cidade de São Paulo, Brasil *Arq Bras Endocrinol Metab* 2007; 51(3):437-42.

34 Lips P, Duong T, Oleksik A, Black D, Cummings S, Cox D, Nickelsen T. A Global Study of Vitamin D Status and Parathyroid Function in Postmenopausal Women with Osteoporosis: Baseline Data from the Multiple Outcomes of Raloxifene Evaluation Clinical Trial *J Clin Endocrinol Metab* 2001 86: 1212–1221

35 Chapuy MC, Preziosi P, Maamer M, Arnaud S, Galan P, Hercberg S Meunier PJ. Prevalence of Vitamin D Insufficiency in an Adult Normal Population *Osteoporos Int* 1997; 7:439–443

36 Bandeira F, Griz L, Freese E, Lima DC, Thé AC, Diniz ET, Marques TF, Lucena CS Vitamin D deficiency and its relationship with bone mineral density among postmenopausal women living in the tropics. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2010; 54(2):227-32

37 Ross AC, Manson JE, Abrams SA, Aloia JF, Brannon PM, Clinton SK, Durazo-Arvizu RA, Gallagher JC, Gallo RL, Jones G, Kovacs CS, Mayne ST, Rosen CJ, Shapses SA. The 2011 report on dietary reference intakes for calcium and vitamin D from the Institute of Medicine: what clinicians need to know. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011; 96(1):53-8.

38 Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, Murad MH, Weaver CM Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011; 96(7):1911-30.

39 Bischoff-Ferrari HA, Willett WC, Orav EJ, Lips P, Meunier PJ, Lyons RA, Flicker L, Wark J, Jackson RD, Cauley JA, Meyer HE, Pfeifer M, Sanders KM, Stähelin HB, Theiler R, Dawson-Hughes B. A pooled analysis of vitamin D dose requirements for fracture prevention. *N Engl J Med.* 2012; 5;367(1):40-9.

40 Bischoff-Ferrari HA, Willett WC, Wong JB et al. Fracture Prevention With Vitamin D Supplementation: A Meta-analysis of Randomized Controlled Trials *JAMA.* 2005; 293(18):2257-2264

41 Holick MF, Siris ES, Binkley N, Beard MK, Khan A, Katze JT, Petruschke RA, Chen E, Papp AE. Prevalence of vitamin D inadequacy among postmenopausal

North American women receiving osteoporosis therapy. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90:3215-3224

42 Bronner F. Calcium Absorption—A Paradigm for Mineral Absorption *J. Nutr.* 1998; 128: 917–920.

43 Wasserman R, Fullmer C. Vitamin D and Intestinal Calcium Transport: Facts, Speculations and Hypotheses *J. Nutr.* 1995; 125: 1971S-1979S,

44 Lieben L, Carmeliet G, Masuyama R. Calcemic actions of vitamin D: Effects on the intestine, kidney and bone. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism* 2011; 25: 561–572

45 Heaney R, Dowell S, Hale CA, Bendich A. Calcium Absorption Varies within the Reference Range for Serum 25-Hydroxyvitamin D. *Journal of the American College of Nutrition*, 2003; 22 (2): 142–146

46 Papworth DG, Patrick G The kinetics of influx of calcium and strontium into rat intestine in vitro. *J Physiol (Lond)* 1970; 210:999-1020.

47 Marcus CS, Lengelmann W. Absorption of Ca⁴⁵ and Sr⁸⁵ from Solid and Liquid Food at Various Levels of the Alimentary Tract of the Rat¹ *J Nutr.* 1962; 77:155-60.

48 Holick MF, Chen TC. Vitamin D deficiency: a worldwide problem with health consequences. *Am J Clin Nutr.* 2008; 87(4):1080S-6S.

49 Saraiva GL, Cendoroglo MS, Ramos LR, Araújo LM, Vieira JG, Kunii I, Hayashi LF, Corrêa MP, Lazaretti-Castro M. Influence of ultraviolet radiation on the production of 25 hydroxyvitamin D in the elderly population in the city of São Paulo (23 degrees 34'S), Brazil. *Osteoporos Int.* 2005; 16(12):1649-54.

50 Khan AH, Rohra DK, Saghir SA, Udani SK, Wood RJ, Jabbar A. No change in calcium absorption in adult Pakistani population before and after vitamin D administration using strontium as surrogate. *Osteoporos Int.* 2013; 24(3):1057-62. doi: 10.1007/s00198-012-2007-9.

51 Hansen C, Werner E, Erbes HJ, Larrat V, Kaltwasser JP Intestinal calcium absorption from different calcium preparations: influence of anion and solubility. *Osteoporos Int.* 1996; 6(5):386-93.

52 Hullriegl V, Louvat P, Werner E, Roth P, Schramel P, Wendler I, Felgenhauer N, Zilker T. Studies of strontium biokinetics in humans Part 2: Uptake of strontium from aqueous solutions and labelled foodstuffs *Radiat Environ Biophys* 2002; 41:281–287 DOI 10.1007/s00411-002-0175-2

53 Milson S. Simple test of intestinal calcium absorption measured by stable Strontium *British Medical Journal* 1987; 25;295(6592):231-4.

54 Sips AJ, van der Vijgh WJ, Barto R, Netelenbos JC. Intestinal absorption of strontium chloride in healthy volunteers: pharmacokinetics and reproducibility. *Br J Clin Pharmacol.* 1996; 41(6):543-9.

55 Sipps et al One Hour test for estimating intestinal absorption of Ca by using stable Sr as a marker. *Clin Chem* 1994; 40(2): 257-259

56 Bolscher MD, Netelenbos JC, Barto R, van der Vijgh WJF. Strontium as a marker for intestinal Ca absorption: the stimulatory effect of calcitriol. *Clin Chemistry* 2000; 46(2):248-51.

57 Zittermann M, Heer M, Caillot-Augusso A, Rettberg P, Scheld K, Drummer C, Alexandre C, Horneck G, Vorobiev D, Stehle P. Microgravity inhibits intestinal calcium absorption as shown by a stable strontium test. *European Journal of Clinical Investigation* 2000; 30: 1036-1043

58 Ardissino G, Schmitt CP, Bianchi ML, Daccò V, Claris-Appiani A, Mehls O. No difference in intestinal Sr absorption after oral or IV calcitriol in children with secondary hyperparathyroidism. *Kidney International* 2000; 58(3):981-8.

59 Aloia JF, Chen DG, Yeh JK, Chen H. Serum vitamin D metabolites and intestinal calcium absorption efficiency in women. *Am J Clin Nutr* 2010;92:835-40

60 Dahl SG, Allain P, Marie J, Mauras Y, Boivin G, Ammann P, Tsouderos Y, Delmas D, Christiansen C. Incorporation and Distribution of Strontium in Bone. *Bone* 2001;28: 446-453

61 Maresova A. A comparison of acute effects of calcium and strontium ranelate on the serum marker of bone resorption. *Clin Chem Lab Med* 2012, 50(2): 333-335

62 Höllriegl V, Li WB, Oeh U. Human biokinetics of strontium—part II: Final data evaluation of intestinal absorption and urinary excretion of strontium in human subjects after stable tracer administration *Radiat Environ Biophys* 2006 45: 179–185

63 Barger-Lux MJ, Heaney RP, Lanspa SJ, Healy JC, DeLuca HF. An investigation of sources of variation in calcium absorption efficiency. *J Clin Endocrinol Metab.* 1995; 80(2):406-11.

64 Graff M, Thacher TD, Fischer PR, Stadler D, Pam SD, Pettifor JM, Isichei CO, Abrams SA Calcium absorption in Nigerian children with rickets. *Am J Clin Nutr.* 2004; 80(5):1415-21.

65 Need AG, Nordin BE. Misconceptions - vitamin D insufficiency causes malabsorption of calcium. *Bone.* 2008; 42(6):1021-4

66 Carlsson A, Lindquist B. Comparison of intestinal and skeletal effects of vitamin D in relation to dosage. *Acta Physiol Scand* 1955;35:53–5.

67 Dumont PA, Curran PF, Solomon AK. Calcium and strontium in rat small intestine. Their fluxes and their effect on Na flux. *J Gen Physiol.* 1960; 43:1119-36.

68 Chattopadhyay N, Quinn SJ, Kifor O, Ye C, Brown EM The calcium-sensing receptor (CaR) is involved in strontium ranelate-induced osteoblast proliferation *Biochem Pharmacol.* 2007;74(3):438-47.

69 Brown E. Is the calcium receptor a molecular target for the actions of strontium on bone? *Osteop Int* 2003; 14 (s3) S25-S34

70 Coulombe J, Faure H, Robin B, Ruat M In vitro effects of strontium ranelate on the extracellular calcium-sensing receptor *Biochemical and Biophysical Research Communications* 323 2004; 1184–1190

Apêndice

Cópia do parecer de aprovação do Comitê de Ética



Universidade Federal de São Paulo

Comitê de Ética em Pesquisa
Hospital São Paulo

MATERIAL E MÉTODO: Materiais e métodos adequadamente descritos.

TCLE: Adequado, de acordo com as normas da Res. 196/96.

DETALHAMENTO FINANCEIRO: Órgão Financiador: FAPESP - Instituto Fleury.

CRONOGRAMA: 18 meses.

OBJETIVO ACADÊMICO: Doutorado.

ENTREGA DE RELATÓRIOS PARCIAIS AO CEP PREVISTOS PARA: 7/9/2009 e 7/9/2010.

O Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo **ANALISOU** e **APROVOU** o projeto de pesquisa referenciado.

1. Comunicar toda e qualquer alteração do projeto e termo de consentimento livre e esclarecido. Nestas circunstâncias a inclusão de pacientes deve ser temporariamente interrompida até a resposta do Comitê, após análise das mudanças propostas.
2. Comunicar imediatamente ao Comitê qualquer evento adverso ocorrido durante o desenvolvimento do estudo.
3. Os dados individuais de todas as etapas da pesquisa devem ser mantidos em local seguro por 5 anos para possível auditoria dos órgãos competentes.

Atenciosamente,

Prof. Dr. José Osmar Medina Pestana
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa da
Universidade Federal de São Paulo/ Hospital São Paulo

0839/08

Anexo 2 termo de consentimento

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Título da pesquisa: Fase B – **“AVALIAÇÃO DA ABSORÇÃO INTESTINAL DE CÁLCIO EM PORTADORES DE OSTEOPOROSE TRATADOS COM COLECALCIFEROL ATRAVÉS DO TESTE DE SOBRECARGA ORAL DE ESTRÔNCIO”**

Você participou do estudo “*STATUS DE VITAMINA D EM PORTADORES DE OSTEOPOROSE TRATADOS NO AMBULATÓRIO DE DOENÇAS OSTEOMETABÓLICAS DE UM HOSPITAL UNIVERSITÁRIO NA CIDADE DE SÃO PAULO*”. Por este motivo está **convidada** a participar da segunda fase desta pesquisa sobre vitamina D e osteoporose, que avaliará a absorção de cálcio no intestino.

A absorção intestinal de cálcio pode estar prejudicada em pacientes com osteoporose. O uso da vitamina D no tratamento da osteoporose parece ser importante para garantir uma absorção adequada do cálcio ingerido. A avaliação da absorção intestinal de cálcio pode ser realizada através de um teste, o teste de sobrecarga oral de estrôncio. Este exame não é feito rotineiramente, porém poderá nos auxiliar a melhorar o tratamento da osteoporose. Atualmente, o estrôncio pode ser utilizado como uma medicação para o tratamento da osteoporose. Este estudo será realizado no Ambulatório de Doenças Ósseas, Disciplina de Endocrinologia, Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), por um período de quatro meses.

Este “Termo de Consentimento Livre e Esclarecido” contém informações sobre a pesquisa indicada acima. Para assegurar que você foi adequadamente informado (a) sobre esta pesquisa, pedimos que leia este termo de consentimento livre e esclarecido. Após a leitura do termo, você e o pesquisador responsável deverão assiná-lo. Você receberá uma cópia assinada deste documento. Pergunte sobre qualquer palavra, termo ou item que não compreenda bem.

Os objetivos deste estudo são:

1. avaliar a absorção intestinal de cálcio em pacientes portadores de osteoporose;
2. avaliar se a reposição da vitamina D é realmente importante para corrigir a redução da absorção de cálcio em portadores de osteoporose.

Se você concordar em participar deste estudo deverá:

1. comparecer ao ambulatório da UNIFESP em jejum e submeter-se a um teste, o teste de sobrecarga oral de estrôncio, que terá um período de duração de 4 horas;

2. deverá ingerir o estrôncio com 200 mL de água e permanecer em jejum;
3. submeter-se ao teste por 2 vezes;
4. receber um tratamento com doses elevadas, porém seguras, de vitamina D, por um período de 8 semanas;
5. submeter-se ao primeiro teste antes do início do tratamento;
6. submeter-se ao segundo teste após o término do tratamento;
7. submeter-se, na ocasião de cada teste, à coleta de sangue venoso (20 mL), após 8 horas de jejum, para a análise de parâmetros do metabolismo do cálcio; a coleta será realizada por técnico experiente, com material descartável;
8. submeter-se a 4 coletas de sangue venoso (10 mL) durante a realização de cada teste; a coleta será realizada por técnico experiente, com material descartável;
9. coletar urina de 24 horas no dia anterior da realização de cada teste;

Os riscos para os participantes deste estudo limitam-se à ocorrência de dor ou à formação de hematoma no local puncionado para a coleta de sangue. Este teste já foi realizado em crianças, sem problema algum. O estrôncio não apresenta efeito tóxico na dose que será administrada.

Os benefícios para os participantes deste estudo incluem a avaliação da absorção intestinal de cálcio, além de identificar a eficiência da suplementação de vitamina D.

Trata-se de um estudo experimental que se utilizará de métodos já validados, porém ainda pouco aplicados.

As informações obtidas durante o estudo permanecerão sob sigilo médico e serão, portanto, confidenciais. Todos os dados obtidos nesta pesquisa serão utilizados, exclusivamente, pelos pesquisadores para o desenvolvimento deste trabalho científico.

Se você escolher participar, poderá mudar sua decisão a qualquer momento e abandonar a pesquisa, sem que isto afete seu tratamento ou acompanhamento ambulatorial.

Ao final do estudo, você terá acesso aos resultados de todos os exames realizados.

Você terá liberdade de esclarecer qualquer dúvida durante o estudo, podendo, a qualquer momento, contatar os pesquisadores responsáveis. Os pesquisadores responsáveis por este trabalho são Dra. Marília Brasilio Rodrigues Camargo e Dra. Marise Lazaretti-Castro.

Em caso de dúvida sobre a ética desta pesquisa, poderá contatar o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da UNIFESP, localizado na Rua Botucatu, nº 572, conjunto 14, Vila Clementino, São Paulo.

Eu, _____, declaro ter sido adequadamente esclarecido (a) sobre os objetivos e procedimentos do estudo "AVALIAÇÃO DA ABSORÇÃO INTESTINAL DE CÁLCIO EM PORTADORES DE OSTEOPOROSE TRATADOS COM COLECALCIFEROL ATRAVÉS DO TESTE DE SOBRECARGA ORAL

DE ESTRÔNCIO” e concordo em participar. Minha participação é voluntária e isenta de despesas. Tenho a garantia de retirar meu termo de consentimento a qualquer momento, não podendo receber qualquer tipo de prejuízo ou penalidade.

Assinatura do participante: _____ Data: _____

Assinatura da testemunha: _____ Data: _____

Assinatura do pesquisador: _____ Data: _____

Endereço e Telefones para contato:

Dra. Marília Brasilio Rodrigues Camargo

Rua Borges Lagoa, nº 800

Vila Clementino, São Paulo

Fone: 5549-7255

Celular: 7119-2606

Dra Tatiane Vilaça

Rua Borges Lagoa, 800

Vila Clementino São Paulo

Tel 81319087