

AVALIAÇÃO DA FOSFATASE ALCALINA SÉRICA NO USO DE IPRIFLAVONA PARA TRATAMENTO DA OSTEOPOROSE INDUZIDA COM DEXAMETASONA

Piccolo, M.S¹; Pizziolo, V.R² Ferreira Junior, D.B³; Matta, S.L.P⁴; Queiroz, J.H⁵.

Resumo: A osteoporose induzida por dexametasona é uma complicação comum e grave nos tratamentos prolongados com esse fármaco. Atualmente os bisfosfonatos, destacando-se o alendronato de sódio, são os agentes mais utilizados no controle e tratamento desse tipo da doença, embora não demonstrem ganho em formação óssea. Como alternativa, avaliamos os níveis séricos de fosfatase alcalina (FAL) e fosfatase alcalina óssea (FAO), pelo uso da ipriflavona, uma isoflavona sintética, comercializada com a finalidade de prevenir e/ou tratar a osteoporose, para o tratamento da osteoporose induzida com dexametasona. Os animais foram então submetidos à indução da osteoporose com a administração do glicocorticoide dexametasona, por via intramuscular, na dose semanal de 7,5 mg/Kg, por quatro semanas (à exceção do grupo controle normal (G1)). Os animais osteoporóticos, foram distribuídos, aleatoriamente, nos seguintes grupos: G2 (controle com osteoporose), G3 (com osteoporose tratado com alendronato de sódio 0,2 mg/kg), e G4 (com osteoporose tratado com ipriflavona 100 mg/kg). Após o período de 30 e 60 dias de tratamento os animais foram eutanasiados e coletou-se sangue

¹ Mestranda em Bioquímica Aplicada da Universidade Federal de Viçosa (UFV). e-mail: mayrapiccolo@ufv.br

² Doutora em Bioquímica Agrícola pela Universidade Federal de Viçosa, Professora do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal de Viçosa (UFV). e-mail: virginia.pizziolo@ufv.br

³ Doutorando em Bioquímica Aplicada da Universidade Federal de Viçosa (UFV). e-mail: daviilson.junior@ufv.br

⁴ Doutor em Biologia Celular pela Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Professor do Departamento de Biologia Geral da Universidade Federal de Viçosa (UFV). email: smatta@ufv.br

⁵ Doutor em Microbiologie Biotechnologie pelo Institut National des Sciences Appliquees de Toulouse (INSAT), Professor do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal de Viçosa (UFV). email: jqueiroz@ufv.br

para as dosagens de FAL e FAO. Os grupos foram comparados entre si pelo teste de Tukey a 5%. Observou-se que os níveis séricos de FAO apresentaram alterações positivas nos grupos tratados com ipriflavona já os níveis séricos de FAL não apresentaram alterações.

Palavras-chave: Marcadores Bioquímicos, *Glicocorticoides*, *Osteoblastos*

Introdução

A osteoporose induzida pelo glicocorticoide dexametasona é um efeito colateral comum e grave observado no uso prolongado deste medicamento amplamente utilizado para o tratamento das mais variadas doenças. A incidência de fraturas ósseas decorrentes desse tipo de osteoporose é elevada, ocorrendo em 30-50% dos pacientes em uso de glicocorticoide por mais de 3 meses.

Nesses casos a osteoporose se dá pelo fato de os glicocorticoides estarem associados à redução direta da quantidade de osteoblastos (aumento da apoptose de osteoblastos), resultando em rápida perda de tecido ósseo, e simultaneamente associados ao aumento da atividade osteoclásticas, com consequente aumento da reabsorção óssea.

Atualmente os bisfosfonatos, dentre eles o alendronato de sódio, são os agentes mais largamente utilizados no controle e tratamento da osteoporose induzida por glicocorticoides, atuando como agentes antirreabsortivos, de baixo custo e alta eficiência, porém, apesar de reduzirem a incidência de fraturas, não demonstram ganho em formação óssea. O objetivo deste trabalho foi avaliar os valores dos níveis séricos da fosfatase alcalina, enzima produzida por osteoblastos, no uso da ipriflavona, uma isoflavona sintética comercializada com a finalidade de prevenir e/ou tratar a osteoporose, a fim de verificar se a ipriflavona auxilia na formação

óssea, sendo eficaz para o tratamento da osteoporose induzida por dexametasona.

Material e Métodos

Para o desenvolvimento deste trabalho, foram utilizadas 48 ratas (*Rattus norvegicus*) da raça *Wistar*, adultas, pesando em média 200g, procedentes do Biotério Central da Universidade Federal de Viçosa (UFV) e alimentados com ração padronizada comercial para ratos de laboratório e água “ad libitum” durante todo experimento, em ambiente climatizado, com período de luz de 12 horas.

Após uma semana, período de adaptação, teve início o processo de indução da osteoporose com a administração do glicocorticóide dexametasona, por via intramuscular, na dose semanal de 7,5 mg/Kg de peso corporal, durante 4 semanas, à exceção de 12 animais que foram denominados grupo 1 (G1) (controle sem osteoporose). Após esse período, os animais osteoporóticos foram distribuídos, aleatoriamente, nos seguintes grupos: G2 (controle com osteoporose), G3 (com osteoporose tratado com alendronato de sódio 0,2 mg/kg), e G4 (com osteoporose tratado com ipriflavona 100 mg/kg). Após o período de 30 e 60 dias do início do tratamento, 6 animais de cada grupo foram anestesiados com solução, via intramuscular, de 0,05 ml de cloridrato de ketamina (1 g/ml) e 0,05 ml de cloridrato de xilazina (23 mg/ml), para através de laparotomia abdominal e posterior punção da veia cava caudal, fossem coletados 5 ml sangue para a dosagem dos níveis séricos de fosfatase alcalina (FAL) e fosfatase alcalina óssea (FAO). O ensaio biológico foi realizado segundo delineamento inteiramente casualizado com 4 tratamentos e 6 repetições. Os grupos foram comparados entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Todos os procedimentos foram aprovados pelo comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Viçosa (protocolo 36/2016).

Resultados e Discussão

Na tabela a seguir estão apresentadas as médias e desvio padrão dos níveis séricos de fosfatase alcalina (FAL) e fosfatase alcalina óssea (FAO) após 30 e 60 dias de tratamento.

Tabela 1- Valores dos níveis séricos de fosfatase alcalina (FAL), em U/L e fosfatase alcalina óssea (FAO), em $\mu\text{g/L}$, de ratas Wistar após 30 e 60 dias de tratamento.

Período	Grupo/ Tratamento	FAL (U/L)		FAO ($\mu\text{g/L}$)	
		Valor	Σ	Valor	σ
30 dias	G1	63,267 a	$\pm 2,259$	3,206 a	$\pm 0,211$
	G2	131,332 b	$\pm 13,545$	3,052 b	$\pm 0,054$
	G3	106,667 c	$\pm 3,629$	3,082 b	$\pm 0,079$
	G4	108,671 c	$\pm 7,257$	3,167 a	$\pm 0,096$
60 dias	G1	67,001 a	$\pm 2,828$	3,318 a	$\pm 0,506$
	G2	68,501 a	$\pm 2,345$	3,008 b	$\pm 0,055$
	G3	98,546 b	$\pm 3,829$	3,184 a	$\pm 0,131$
	G4	74,428 b	$\pm 5,912$	3,341 a	$\pm 0,202$

Em cada período, médias seguidas de letra minúscula diferente, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Avaliando o grupo com osteoporose sem tratamento (G2) foi possível verificar aos 30 e 60 dias de tratamento a progressiva redução dos níveis séricos da FAO. Durante todo o período experimental o grupo que recebeu tratamento com alendronato de sódio (G3) apresentou níveis sérico de FAO abaixo do parâmetro de normalidade (G1), demonstrando assim, o baixo potencial deste fármaco em induzir a atividade de osteoblastos. Aos 30 e 60 dias de tratamento, o grupo tratado com a ipriflavona (G4), apresentou níveis séricos de FAO significativamente superiores ao grupo osteoporótico sem tratamento (G2) e equiparáveis ao grupo normal (G1). Os níveis séricos de FAL, afetados pelas variantes intestinal, renal e hepática, não apresentaram correspondência à FAO. O

aumento dos níveis séricos de FAO presentes no grupo tratado com ipriflavona corresponde à capacidade de atuação direta das isoflavonas sobre a atividade dos osteoblastos através da ligação nos receptores de estrogênio presentes na superfície dessas células, exercendo seus efeitos pelo mesmo mecanismo que este hormônio. Essa atuação direta sobre a atividade osteoblástica e consequente formação óssea, justifica seu maior potencial de tratamento na fase tardia da indução da osteoporose com dexametasona.

Conclusões

O tratamento com ipriflavona ocasionou alterações positivas significativas nos níveis séricos da fosfatase alcalina óssea (FAO) demonstrando a capacidade desses fármacos em aumentar a atividade reparadora óssea através de estímulo da atividade e aumento do número de osteoblastos.

Os níveis séricos de fosfatase alcalina (FAL) não apresentaram correspondência à FAO.

Referências Bibliográficas

ALTUNDA ,H; GURSOY,B. The influence of alendronate on bone formation after autogenous free bone. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology**, v.99, p.285-291, 2005.

B E L L E I , P . M ; T E R R A , M . M . ; P E T E R S , V . M . ; GUERRA,M.O.;ANDRADE,A.T. L. Efeito da ipriflavona sobre ratas Wistar e suas ninhadas. **Revista Brasileira de Ginecologia Obstetrícia**, v. 34, n. 1, p.22-27, 2012 .

DRAKE MATTHEW, T.; CLARKE BART ,L.; KHOSLA SUNDEEP (2008) Bisphosphonates: mechanism of action and role in clinical practice. **Mayo Clinic Proceedings** v.83,p.1032–1045, 2008.

JILKA,R.L. Biology of the basic multicellular unit and the pathophysiology of osteoporosis. **Medical and Pediatric Oncology**, v.41, n.3, p.182-185, 2003.

RODRIGUES, R.M.P. et al. Guidelines for the prevention and treatment. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v.52, p.569-593, 2012.

S A S A K I , N . ; K U S A N O , E . ;
ANDO,Y.;YANO,K.;TSUDA,E.;ASANO,Y. Glucocorticoid
decreases circulating osteoprotegerin (OPG): possible mechanism
for glucocorticoid induced osteoporosis. **Nephrology Dialysis
Transplantation**, v.6, p.479-482, 2001.