

**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE GERONTOLOGIA  
PROGRAMA DE GERONTOLOGIA BIOMÉDICA**

**MAURICIO SPRENGER BASSUINO**

**AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS SÉRICOS DE PARATORMÔNIO E VITAMINA D EM  
HOMENS COM LESÃO MEDULAR POR TRAUMATISMO**

Porto Alegre  
2013

**MAURICIO SPRENGER BASSUINO**

**AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS SÉRICOS DE PARATORMÔNIO E VITAMINA D EM  
HOMENS COM LESÃO MEDULAR POR TRAUMATISMO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Gerontologia Biomédica do Instituto de Geriatria e Gerontologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Gerontologia Biomédica.

**Orientador: Prof. Dr. Rodolfo Herberto Schneider**

Porto Alegre  
2013

B323a Bassuino, Mauricio Sprenger

Avaliação dos níveis séricos de paratormônio e vitamina D em homens com lesão medular por traumatismo / Mauricio Sprenger Bassuino. – Porto Alegre, 2013.

65 f.: gráf. il.

Dissertação (Mestrado) – Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Instituto de Geriatria e Gerontologia. Programa de Pós-Graduação em Gerontologia Biomédica.

Orientador: Prof. Dr. Rodolfo Herberto Schneider

1. Medula Óssea/ lesões. 2. Osso/ metabolismo. 3. Vitamina D. 4. Hormônio Paratireóideo. 5. Cálcio. I. Schneider, Rodolfo Her. II. Título.

**CDD 616.7**

Bibliotecária Responsável:  
Elisete Sales de Souza - CRB 10/1441

## RESUMO

Indivíduos com lesão medular são mais vulneráveis à perda de massa óssea, devido à reduzida atividade física e menor exposição solar, o que pode refletir nos valores do paratormônio (PTH) e vitamina D. **Objetivo:** Mensurar valores séricos de PTH, cálcio e vitamina D em portadores de lesão medular por trauma. **Metodologia:** Estudo transversal em homens portadores de lesão medular por traumatismo da Associação dos lesados medulares do Rio Grande do Sul (LEME) e Associação Canoense de Deficientes Físicos (ACADEF), Brasil. Foi aplicado um questionário com dados socioeconômicos e de saúde, além da mensuração de PTH, cálcio e vitamina D. Para a análise dos dados foi utilizada a correlação linear e o teste do Qui-quadrado. Foram significativos os valores de  $p \leq 0,05$ . **Resultados:** A idade média dos participantes foi de  $35,52 \pm 9,78$  anos. O tempo médio de lesão foi de  $6,09 \pm 5,55$  anos (paraplegia de  $6,07 \pm 5,87$  e tetraplegia de  $6,17 \pm 4,55$  anos). A concentração média de vitamina D foi  $19,04 \pm 6,98$  ng/mL (paraplegia de  $20,13 \pm 7,18$  ng/mL e tetraplegia de  $15,27 \pm 4,92$  ng/mL). A concentração sérica de cálcio total foi de  $9,54 \pm 0,52$  mg/dL, não tendo variação entre os indivíduos com tetra e paraplegia. Os níveis médios de paratormônio foram de  $34,81 \pm 10,84$  pg/mL (paraplegia de  $33,43 \pm 8,61$  pg/mL e tetraplegia de  $39,59 \pm 16,19$  pg/dL). Indivíduos com exposição solar superior a 2 horas por dia apresentaram valores de vitamina D mais elevados em relação aos que se expunham até uma hora por dia ( $p=0,001$ ) e sujeitos com maior tempo de lesão apresentaram valores de vitamina D mais reduzidos ( $p=0,029$ ). **Conclusão:** A vitamina D se mostrou mais elevada nos sujeitos com um tempo de exposição solar superior a 2 horas por dia e mais reduzida naqueles com maior tempo de lesão medular. O valor médio de vitamina D está classificado na faixa deficiente.

Palavras-chave: Lesão Medular. Vitamina D. PTH. Cálcio. Metabolismo Ósseo.

## ABSTRACT

Individuals with spine cord injury are more vulnerable to bone loss due to reduced physical activity and lower sun exposure, which may reflect the values of parathyroid hormone (PTH) and vitamin D. **Objective:** Measure serum PTH, calcium and vitamin D in patients with spinal cord injury by trauma. **Methods:** Cross-sectional study in men with spinal cord injury of the Associação dos Lesados Medulares do Rio Grande do Sul (LEME) and Associação Canoense de Deficientes Físicos (ACADEF), Brazil. It was applied a questionnaire with socioeconomic and health data, and the measurement of PTH, calcium and vitamin D. For data analysis we used the linear correlation and chi-square. Were significant p values  $\leq 0.05$ . **Results:** The mean age of participants was  $35.52 \pm 9.78$  years. The mean time lesion was  $6.09 \pm 5.55$  years ( $6.07 \pm 5.87$  for paraplegia and  $6.17 \pm 4.55$  years for tetraplegia). The mean concentration for vitamin D was  $19.04 \pm 6.98$  ng / mL ( $20.13 \pm 7.18$  for paraplegia ng / mL and  $15.27 \pm 4.92$  for tetraplegia ng / mL). The serum total calcium was  $9.54 \pm 0.52$  mg / dL, with no variation between individuals with paraplegia and tetraplegia. Mean levels of parathyroid hormone was  $34.81 \pm 10.84$  pg / mL ( $33.43 \pm 8.61$  for paraplegia pg / ml and  $39.59 \pm 16.19$  for tetraplegia pg / dL). Individuals with sun exposure more than 2 hours per day of vitamin D had higher values than those who were exposed to an hour per day ( $p = 0.001$ ) and subjects with longer lesions showed lower values of vitamin D ( $p = 0.029$ ). **Conclusion:** Vitamin D showed higher in subjects with a time of sun exposure greater than 2 hours per day and lowest in those with longer duration of spinal cord injury. The average value of vitamin D is in the range rated poor.

Key words: Spinal Cord Injury. Vitamin D. PTH. Calcium. Bone Metabolism.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>6</b>
<b>2 REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	<b>8</b>
2.1 LESÃO MEDULAR .....	8
2.2 METABOLISMO ÓSSEO .....	9
2.3 METABOLISMO ÓSSEO NA LESÃO MEDULAR.....	11
<b>3 OBJETIVOS</b> .....	<b>14</b>
3.1 OBJETIVO GERAL.....	14
3.2 OBJETIVOS SECUNDÁRIOS .....	14
<b>4 METODOLOGIA</b> .....	<b>15</b>
4.1 DELINEAMENTO.....	15
4.2 ESTRATÉGIA DE AÇÃO .....	15
4.3 AMOSTRA .....	15
<b>4.3.1 Tamanho amostral</b> .....	<b>15</b>
<b>4.3.2 Critérios de inclusão</b> .....	<b>16</b>
<b>4.3.3 Critérios de exclusão</b> .....	<b>16</b>
<b>4.3.4 Recrutamento dos participantes</b> .....	<b>17</b>
4.4 AVALIAÇÃO CLÍNICA .....	17
4.5 AVALIAÇÃO LABORATORIAL .....	18
<b>4.5.1 Dosagem de PTHi</b> .....	<b>18</b>
<b>4.5.2 Dosagem de cálcio total, albumina, creatinina e uréia</b> .....	<b>18</b>
<b>4.5.3 Vitamina D</b> .....	<b>20</b>
4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	21
4.7 ASPECTOS ÉTICOS .....	22
<b>5 RESULTADOS</b> .....	<b>23</b>
<b>6 DISCUSSÃO</b> .....	<b>30</b>
<b>7 CONCLUSÃO</b> .....	<b>35</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>36</b>
<b>APÊNDICE A - QUESTIONÁRIO</b> .....	<b>41</b>
<b>ANEXO A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO</b> .....	<b>43</b>
<b>ANEXO B - RECORDATÓRIO ALIMENTAR</b> .....	<b>44</b>
<b>ANEXO C – COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA</b> .....	<b>45</b>
<b>ANEXO D - COMISSÃO CIENTÍFICA</b> .....	<b>46</b>

<b>ANEXO E - ARTIGO .....</b>	<b>47</b>
<b>ANEXO F – COMPROVANTE DE SUBMISSÃO .....</b>	<b>63</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Com o aumento do tempo médio de vida, como vem sendo observado nos últimos anos, tem se buscado continuamente a melhora da qualidade de vida durante o desenvolvimento do processo de envelhecimento<sup>(1)</sup>. Um grande fator dificultante para o êxito nesse processo é o desenvolvimento de osteoporose. Embora essa patologia possua uma prevalência superior em mulheres, principalmente após a menopausa<sup>(1)</sup>, o sexo masculino também pode ser afetado.

A busca do processo de envelhecimento bem sucedido somado a uma qualidade de vida elevada difunde-se também a outros nichos específicos do conhecimento. Isso ocorre buscando minimizar características próprias de um processo não fisiológico, como a acentuada perda mineral óssea, decorrente da lesão medular, que podem somar-se com processos que frequentemente ocorrem com o avanço da idade. Destarte, a identificação do que ocorre no processo ósseo metabólico de indivíduos com lesão medular torna-se fundamental para buscar a compreensão da otimização desse processo para um envelhecimento bem sucedido.

Atualmente, segundo dados americanos, cerca de 300.000 pessoas vivem com alguma consequência decorrente de lesão medular, sendo que surgem aproximadamente 10.000 a 14.000 casos novos por ano. Destes, grande parte são adultos jovens. Devido ao grande número de novos casos por ano e por se tratar de indivíduos que necessitam de acompanhamento para tentar diminuir as complicações pertinentes à lesão medular o governo americano possui um gasto em torno de bilhões de dólares<sup>(2)</sup>.

Após a instalação da lesão medular uma série de complicações podem surgir no decorrer dos anos fazendo com que haja uma diminuição da qualidade de vida e, em alguns casos, aumente a dificuldade no manejo desses indivíduos<sup>(1)</sup>.

A principal complicação em indivíduos com lesão medular é a osteoporose<sup>(3, 4)</sup>. Atualmente o real motivo da instalação dessa patologia ainda não é bem conhecida<sup>(4)</sup>, tendo relatos divergentes na literatura sobre isso.

Embora saiba-se que o cálcio é um dos elementos mais importantes do organismo, com inúmeras funções fisiológicas imprescindíveis à vida<sup>(5, 6)</sup> e que este é depositado em sua maior parte no tecido ósseo, o comportamento desse tecido nesses indivíduos ainda não se apresenta bem esclarecida<sup>(5)</sup>.



Por esse motivo, tendo em vista a baixa concordância entre a literatura especializada em metabolismo ósseo de indivíduos portadores de lesão medular, torna evidente a necessidade de novos estudos a respeito desse tema. A melhor compreensão sobre como comporta-se o tecido ósseo nesses indivíduos possibilitará futuramente um manejo de melhor qualidade, minimizando as complicações decorrentes dessa condição e, indiretamente, otimizando os custos para o acompanhamento dos portadores dessa condição, bem como possibilitando um envelhecimento com melhor condições ósseo-metabólicas.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 LESÃO MEDULAR

Lesões traumáticas na medula espinhal são situações frequentes e de consequências devastadoras para a vida do paciente. Nos Estados Unidos 300.000 pessoas vivem com sequelas relacionadas a danos de medula espinhal, e a cada ano, surgem entre 10.000 a 14.000 casos novos. A maioria destes incluem pessoas em idade ativa, com menos de 30 anos. Este quadro de desvantagem física gera um alto custo de manutenção para o governo e a sociedade, o qual está estimado em \$8 bilhões por ano, e individualmente \$1.35 milhões durante toda vida de cada paciente<sup>(7)</sup>. No Brasil, ocorrem cerca de 40 casos novos anuais por milhão de habitantes, perfazendo um total de 6 a 8 mil casos por ano<sup>(8)</sup>.

Segundo Jackson et al<sup>(9)</sup> em estudo realizado em 2004, as causas geradoras da lesão medular, ou trauma raquimedular, são variadas, sendo que a origem mais comum é proveniente de acidentes automobilísticos (45,6%), seguido por quedas (19,6%) violência urbana (17,8%) e esportes (16%).

O nível do segmento medular lesado determina quais funções motoras, sensitivas e reflexas do organismo poderão ser afetadas. Dependendo da intensidade da lesão, se observa grande variabilidade de disfunção neuronal, a qual vai desde uma perda parcial e sutil de movimentos até a incapacidade de deambulação. A lesão medular é denominada completa, quando existe ausência de sensibilidade e motricidade inferior ao nível de lesão, permanecendo somente os reflexos involuntários. Na lesão incompleta, existe a preservação de, no mínimo, uma das modalidades, sensitiva ou motora, abaixo da lesão<sup>(10)</sup>. A intensidade do impacto sofrido pela medula pode ocasionar de uma completa paralisia a uma mielopatia ou paresia incompleta. Problemas como a perda de controle intestinal ou de bexiga, lesões cutâneas e irregularidades na pressão sanguínea, também podem estar associados<sup>(7, 11)</sup>.

O mecanismo de lesão deve ser conhecido, pois permite inferir qual o melhor tratamento a ser administrado e o prognóstico funcional do paciente. O trauma por contusão é a lesão medular mais observada, tendo como fisiopatologia uma compressão externa da medula espinhal. O processo inicial desencadeado após a lesão medular está relacionado com rompimento e laceração do tecido nervoso, os quais resultam na interrupção da transmissão axonal e subsequente degeneração neuronal e axonal, e estes por sua vez contribuem para a

formação de cicatriz astrocítica. De um modo geral, qualquer forma de intervenção posterior a um trauma na medula espinhal possui apenas caráter paliativo<sup>(7, 12)</sup>.

## 2.2 METABOLISMO ÓSSEO

O cálcio é um dos elementos mais importantes do organismo, sendo que 99% encontra-se armazenado no tecido ósseo<sup>(5)</sup>. Este elemento desempenha diversas funções fisiológicas das quais, a não realização de forma adequada, poderia levar a sérias injúrias ao nosso organismo. Dentre as funções exercidas pelo cálcio podemos citar a atividade neuromuscular, funções de membrana, como, polarização/despolarização e abertura/fechamento de canais transmembrana, secreção hormonal, atividade enzimática, coagulação sanguínea e, claro, mineralização esquelética<sup>(5, 6)</sup>. Devido a essa última função, o tecido ósseo, apresenta também uma grande importância não só estrutural, através do esqueleto, mas também uma função metabólica, servindo de reserva mineral que pode ser acessado a qualquer momento para garantir a normocalcemia (concentrações adequadas de cálcio sanguíneo)<sup>(5)</sup>, para a correta execução das atividades citadas anteriormente. O metabolismo ósseo é dinâmico e é caracterizado por duas fases: a formação óssea e a reabsorção óssea<sup>(13)</sup>.

Uma vez formada a estrutura óssea, ela é continuamente renovada e modificada pelo processo conhecido como remodelação óssea. Essas modificações podem chegar a taxas de 2 a 10% da massa esquelética por ano em indivíduos adultos e, para que haja uma correta fixação da massa óssea, é necessário que a taxa de formação seja idêntica à taxa de reabsorção<sup>(13)</sup>. Quando, por qualquer que seja o motivo, ocorre uma alteração nessas proporções, ou seja, a taxa de formação torna-se inferior à taxa de reabsorção, ocorre em um primeiro momento a instalação de uma fraqueza óssea, com diminuição da massa óssea e, em seguida, osteopenia. Dependendo da duração desta alteração (diferença entre taxas de formação/reabsorção) é possível que seja instalado um quadro de osteoporose<sup>(13)</sup>.

Sendo o cálcio um importante elemento no organismo, como pode-se perceber, existe a necessidade de um sistema sensível às pequenas alterações na sua concentração sanguínea para garantir sua homeostasia e desempenhar todas as ações fisiológicas citadas anteriormente. Este controle se dá em maior parte pela ação de hormônios calciotrópicos como vitamina D e, principalmente, o hormônio paratireóideo (PTH)<sup>(6)</sup>.

As glândulas paratireóides são as responsáveis pela síntese deste hormônio e, geralmente, são encontradas na região anterior à tireóide e, normalmente, em 4. Esse hormônio é de constituição protéica, formado por 84 aminoácidos em sua forma final<sup>(14, 15)</sup>, sendo que sua fração ativa corresponde à sequência 1-34 de aminoácidos<sup>(15)</sup>. Uma vez sintetizado pelas paratireóides, este hormônio é armazenado em vesículas de secreção onde pode sofrer metabolização intracelular, fazendo com que apenas os fragmentos com terminação carboxi-terminais sejam liberados para a circulação juntamente com a forma ativa<sup>(14)</sup>.

As glândulas paratireóides são as principais reguladoras do metabolismo ósseo através do PTH, devido à alta concentração de receptores específicos para cálcio em sua membrana, fazendo com que haja um equilíbrio inversamente proporcional entre o nível plasmático de cálcio e produção de PTH, na ausência de patologias<sup>(6, 16)</sup>, ou fatores interferentes como contaminação por alumínio, uso de corticóides, estrogênio e algumas citocinas pró-inflamatórias<sup>(16)</sup>.

A forma ativa do PTH atua de diversas formas no organismo, exercendo diferentes estímulos em sítios distintos<sup>(6, 14)</sup>. A partir do momento em que o PTH é sintetizado e secretado na circulação ele atua de diferentes maneiras a fazer com que o cálcio sanguíneo aumente. Para isso, a ação do PTH é intensamente direcionada para o maior reservatório deste elemento no organismo, o tecido ósseo, e os rins. De forma indireta, o PTH atua sobre o intestino aumentando a absorção do cálcio proveniente da alimentação<sup>(14)</sup>. Bracco et al<sup>(15)</sup>, relata que o processo de ação do PTH se dá através do aumento da excreção de fósforo com maior absorção renal de cálcio, enquanto estimula a conversão da 25-hidroxicoлекаliferol (25(OH)vitaminaD) ou vitamina D, na sua forma mais ativa, a 1,25-dehidrocoлекаliferol (1,25(OH)<sub>2</sub>vitaminaD), produzindo assim esse aumento na absorção de cálcio no intestino<sup>(5)</sup>. O processo no tecido ósseo ocorre através do estímulo e secreção de fatores que potencializam a ação de osteoclastos, células responsáveis pela reabsorção óssea<sup>(15)</sup>.

A vitamina D através, principalmente, da sua forma mais ativa, a 1,25-dehidrocoлекаliferol demonstra ser uma importante forma de controle do metabolismo ósseo<sup>(5, 16)</sup>. A vitamina D possui interessante papel no controle desse metabolismo ósseo<sup>(5)</sup> por atuar, também, na própria glândula paratireóide, através de seus receptores para vitamina D (VDR)<sup>(16)</sup> e desempenhar um papel importante na função muscular<sup>(5)</sup>. A maior fonte de vitamina D é a produção cutânea, que ocorre com a irradiação solar. Estudos sugerem que em

regiões de latitudes temperadas o hábito de tomar sol seja frequente, com exposição das mãos, braços e face, sem o uso de protetor solar ou outra barreira física, por 5-10 min, 2 ou 3 vezes por semana<sup>(5)</sup>, para manter os níveis adequados de vitamina D. Com a exposição da pele aos raios ultravioleta (UV), inicia-se a formação do colecalciferol (VIT D<sub>3</sub>). Esse por sua vez é convertido em 25-dehidroxicolecalciferol no fígado e então à 1,25-dihidroxicolecalciferol nos rins<sup>(17)</sup>.

Segundo Holick et al, em guideline publicado, estipula que valores abaixo de 25OH-vitaminaD abaixo de 20 ng/mL são classificados como deficiência; valores de 25OH-vitaminaD entre 21-29 ng/mL são classificados como insuficiência e; valores de 25OH-vitaminaD acima de 30 ng/ml são considerados excelentes<sup>(18)</sup>.

### 2.3 METABOLISMO ÓSSEO NA LESÃO MEDULAR

O conhecimento acerca das consequências provenientes da longa imobilização já é bem conhecida e relatada na literatura. Bauman et al.<sup>(19)</sup> faz um levantamento histórico em seu artigo, mostrando que há anos era discutido que a perda óssea era ocasionada pela diminuição do estresse e tensão muscular proveniente da baixa mobilidade.

A lesão medular e, conseqüentemente, a imobilização que é ocasionada por esse dano, está associada com perda rápida da força muscular e, em pouco tempo, posteriormente, com a perda óssea<sup>(20)</sup>.

Uma das principais complicações em indivíduos portadores de lesão medular é a osteoporose<sup>(21, 22)</sup> e, por esse motivo, tem sido foco de novos estudos<sup>(21, 23)</sup>. É importante ressaltar que o padrão de perda óssea observada em portadores de lesão medular é diferente daqueles observados em indivíduos que adquiriram essa perda decorrente de outras etiologias, como doenças endócrinas, idade avançada, fatores nutricionais e através de fármacos<sup>(24)</sup>. Contudo, mesmo com inúmeros estudos a respeito dessa perda mineral óssea frequentemente observada nestes indivíduos a correta etiologia continua desconhecida<sup>(4)</sup>.

Dentre os fatores contribuintes para instalação dessa perda acelerada da massa óssea podemos citar as deficiências hormonais<sup>(25)</sup>, lesões induzidas por alterações da circulação sanguínea e falta de cargas mecânicas sobre os ossos dos membros paralisados<sup>(4, 22)</sup>. Desse modo, segundo esses autores, a lesão medular é fortemente associada à uma atrofia muscular

e óssea, podendo ser ainda mais pronunciada em pessoas com um grau de paralisia maior<sup>(26, 27)</sup>.

Garland et al<sup>(28)</sup>, cita trabalhos seus anteriores em que utiliza uma distribuição geral das fases de perda óssea em portadores de lesão medular. Segundo seus estudos essa perda óssea ocorre de maneiras diferentes conforme o tempo de injúria sendo divididas em 3 fases. A primeira é a fase aguda ou “resposta à injúria”. Esta fase ocorre nos primeiros 3 ou 4 meses ou imediatamente após a injúria com diminuição acentuada da densidade mineral óssea (DMO)<sup>(22)</sup>, apresentando uma taxa de redução de 1% por semana na DMO do joelho e variação dos marcadores do metabolismo ósseo. Nesta mesma fase o autor evidencia, através de outros estudos seus, a ocorrência também de uma diminuição na massa óssea total na pelve, região do calcâneo e em toda extremidade inferior a uma taxa de 2% por semana<sup>(28)</sup>. A fase seguinte é denominada de fase sub-aguda ou “fase de adaptação e ajustes”. Essa fase pode durar por aproximadamente mais 1 ano<sup>(28)</sup>. A DMO no joelho perdida nessa fase é de aproximadamente 1% ao mês, enquanto a perda acelerada persiste na região calcânea e toda extremidade inferior<sup>(28, 29)</sup>. A última fase citada, é a fase crônica que por apresentar uma população bastante reduzida torna-se difícil estabelecer taxas de diminuição na DMO<sup>(28)</sup>.

De um modo geral, é sabido que a diminuição ou a restrição de movimento, imposta em variados graus, nos indivíduos portadores de lesão medular, aumenta a atividade de reabsorção óssea pelos osteoclastos<sup>(30)</sup>, fazendo com que haja a instalação inicialmente de uma fragilidade e posteriormente, tornando os ossos mais suscetíveis à fraturas.

Atualmente, como prova da importância que a tração mecânica exerce sobre o metabolismo ósseo, diversos estudos evidenciam que a prática de exercícios, ao proporcionar uma melhora muscular, pode beneficiar os ossos, já que isso faz com que, através do fortalecimento muscular, um maior estresse mecânico sobre o tecido ósseo a que está inserido, aumentando assim, o estímulo de formação óssea<sup>(22)</sup>.

Grande parte dos estudos apresentados até aqui e outros encontrados na literatura, buscam verificar essas alterações através de parâmetros laboratoriais e exames de imagem. Atualmente estudos como Oleson et al<sup>(31)</sup>, conferem à vitamina D, ou melhor, a diminuta presença desta no organismo, uma grande importância para o surgimento da osteoporose. Pesquisas envolvendo marcadores específicos do metabolismo ósseo surgem a fim de auxiliar na melhor compreensão de como se dá o controle metabólico nesses indivíduos com condição peculiar. Garland et al<sup>(28)</sup> cita em seu artigo estudos que mostram as diferentes concentrações

de alguns desses marcadores durante a evolução da injúria. Na fase aguda, momento em que o organismo tenta assimilar a lesão, é onde ocorre a maior atividade reabsortiva<sup>(22)</sup> e ocorre acentuada elevação dos marcadores de reabsorção óssea no soro e urina<sup>(28)</sup>. Essa atividade dos osteoclastos pode ser observada através da hipercaleciúria e outros marcadores não específicos que necessitam maiores estudos para uma adequada interpretação, como a hidroxiprolina e ainda, através de outros marcadores diretos como a deoxipiridolína, piridolína e N-telopeptídeo que tornam-se elevados após a injúria tendo seu pico em aproximadamente 24 semanas após<sup>(28)</sup>. Seguindo o desenvolvimento cronológico da lesão medular, é relatado neste mesmo artigo de Garland et al<sup>(28)</sup>, que na fase subaguda os marcadores de reabsorção óssea estão retornando aos valores normais, juntamente com os valores de PTH que pode ter se elevado durante a primeira fase. As tentativas de verificação da atividade de formação óssea, através de marcadores da atividade osteoblástica, não se mostraram satisfatórias, pois muitas vezes apresentavam redução e/ou aumento da atividade nessas duas primeiras fases, segundo o que é mostrado na literatura<sup>(28)</sup>.

A utilização da vitamina D no auxílio da compreensão do metabolismo ósseo tem se mostrado bastante interessante, entretanto, a falta de estudos padronizados que utilizem uma população homogênea e com o período de coleta de amostra semelhante tem dificultado essa ação. Oleson et al<sup>(31)</sup>, retrata justamente essas questões acerca da dificuldade da obtenção de boas análises de vitamina D. Segundo este artigo, a primeira dificuldade é quanto ao valor de referência adotado para uma correta interpretação clínica e, por esse motivo, eles adotaram para a realização do seu estudo valores de vitamina D de 32 ng/mL como subterapêutico, 20 ng/mL insuficientes e abaixo de 12 ng/mL deficientes<sup>(31)</sup>, diferentemente dos estipulados atualmente.

De uma forma geral, podemos considerar o que Jiang et al<sup>(24)</sup>, relatou em sua revisão. Percebendo que a  $1,25(\text{OH})_2$  vitamina D é formada a partir da estimulação do PTH sobre a hidroxilação renal de  $25(\text{OH})$ vitaminaD, os níveis séricos dessa substância estarão diminuídos, decorrente da supressão do PTH pelo cálcio aumentado, proveniente do aumento reabsortivo. Logo, o eixo PTH-VitD, importantes na manutenção desse sistema sofre alterações com o início da injúria.

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 OBJETIVO GERAL**

- Mensurar os níveis séricos de PTH, cálcio e vitamina D em indivíduos portadores de lesão medular.

#### **3.2 OBJETIVOS SECUNDÁRIOS**

- Verificar a ação do tempo de lesão medular nos valores séricos de cálcio, vitamina D e PTH;
- Verificar o tipo de lesão medular (completa ou incompleta) e a sua relação com os valores séricos de cálcio, vitamina D e PTH;
- Verificar se a condição socioeconômica tem influência sobre os valores séricos de cálcio, vitamina D e PTH.



## **4 METODOLOGIA**

### 4.1 DELINEAMENTO

Estudo transversal.

### 4.2 ESTRATÉGIA DE AÇÃO

Após aprovação do comitê científico e, posteriormente, do comitê de ética em pesquisa as coletas foram iniciadas.

Em um primeiro momento as coletas foram realizadas na LEME (Associação dos lesados medulares do Rio Grande do Sul) e, posteriormente, ACADEF e com voluntários que demonstraram interesse em participar após convite verbal prévio.

Para que o indivíduo pudesse participar como voluntário da pesquisa, ele deveria preencher aos quesitos necessários estabelecidos pelo pesquisador e concordar com o TCLE - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (ANEXO A). Após leitura e preenchimento do TCLE foi aplicado um questionário elaborado pelo pesquisador (APÊNDICE A) para verificar hábitos de vida, prática de exercícios, tempo de lesão medular, exposição solar e questionário de recordatório alimentar (ANEXO B) para identificação de fatores alimentares potencialmente interferentes à pesquisa ou outros itens que pudessem ser passíveis de interferências às dosagens bioquímicas realizadas no estudo.

Caso durante a aplicação dos questionários não fosse identificado nenhum fator excludente do participante, o mesmo teria condição de participar do estudo e seria submetido à punção venosa para colheita de material sanguíneo suficiente para as análises preconizadas no projeto. Todas as amostras sanguíneas foram centrifugadas, separadas e armazenadas à 80°C negativos até o momento da análise.

### 4.3 AMOSTRA

#### **4.3.1 Tamanho amostral**

O cálculo do tamanho amostral foi realizado para o objetivo principal de verificar os níveis séricos de PTH, cálcio e Vit-D em homens com lesão medular. Foi utilizado para o

cálculo o programa “samples.exe” do pacote estatístico PEPI versão 4. Considerando um poder de 90% e um erro alfa de 0,05. A tabela 1 mostra o número de participantes necessários em cada grupo para comparação de médias entre dois grupos, de acordo com valores de PTH e Vit-D descritos para homens com lesão medular e com a diferença esperada, considerada clinicamente significativa, entre dois grupos.

**Tabela 1.** Número de participantes necessários em cada grupo

Variável	Média aproximada	Desvio padrão aproximado	Diferença esperada entre 2 grupos	N*
PTH (pg/mL)	47	25	10	49
Vit-D (ng/mL)	20	11	8	41

Fonte: O Autor, 2013

\* Número de pacientes necessário em cada grupo

A amostra foi constituída por indivíduos do sexo masculino, portadores de lesão medular por traumatismo oriundos de instituições de apoio e tratamento, nesse caso LEME (Associação dos Lesados medulares do Rio Grande do Sul) e ACADEF, localizadas em Porto Alegre e região metropolitana e indivíduos interessados em participar do estudo.

#### 4.3.2 Critérios de inclusão

Foram incluídos no estudo indivíduos do sexo masculino, portadores de lesão medular por traumatismo que pudessem ler e compreender o TCLE, responder aos questionários, bem como, tivesse idade igual ou superior a 18 anos.

#### 4.3.3 Critérios de exclusão

Foram excluídos do estudo todos os indivíduos que apresentassem défcti cognitivo capaz de dificultar ou inviabilizar o respondimento dos questionários que seriam aplicados. Teria, também, excluída a participação caso o indivíduo apresentasse qualquer doença capaz de interferir no metabolismo ósseo, como hiperparatireoidismo primário ou secundário, neoplasias, alterações da função renal e disfunções da tireóide, bem como estar utilizando fármacos diuréticos capazes de causar alterações no metabolismo ósseo.

#### **4.3.4 Recrutamento dos participantes**

Todos os participantes foram contactados anteriormente ao período de coleta de informações para verificação da causa da condição e sua condição (tetra ou paraplégica), bem como, averiguar a existência de algum dos critérios de exclusão citados anteriormente. Uma vez que o indivíduo estivesse apto para participar do estudo era marcado um dia e local para a coleta de informações e coleta venosa.

#### **Testes laboratoriais**

Após a aplicação dos questionários foi realizada uma coleta sanguínea, seguindo as normas da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica<sup>(32)</sup>.

Após a coleta sanguínea o material foi disposto nos tubos coletores específicos para a obtenção de soro ou plasma, conforme padronizado pelo fabricante dos kits que foram utilizados para as dosagens. Para otimização do processo de dosagens dos analitos, após obtida essas amostras, elas foram centrifugadas, separadas e, em seguida, armazenadas em freezer à -80°C para que as dosagens ocorressem simultaneamente e fossem sequenciais.

#### **4.4 AVALIAÇÃO CLÍNICA**

Após a concordância do voluntário em participar do estudo, foi realizada uma avaliação prévia dos sujeitos a fim de se coletar informações pertinentes aos objetivos do estudo. Em um primeiro momento os voluntários foram convidados a responder a um questionário elaborado pelos pesquisadores que continha questionamentos a respeito de dados sociodemográficos, como renda individual, local de moradia, escolaridade; antropométricas, apenas peso e altura relatado pelo próprio indivíduo; de saúde, para verificar a existência de alguma patologia já conhecida pelo indivíduo, prática ou não de exercícios, se é fumante ou não, fraturas presentes ou que tenha ocorrido no passado, uso de bebidas alcólicas e exposição solar. (APÊNDICE A). Foi aplicado também um recordatório alimentar de 24 horas para três dias distintos, a fim de se obter informações a respeito dos hábitos alimentares atuais. (ANEXO B)

Para facilitar na interpretação e cruzamento dos dados algumas variáveis foram classificadas. Em relação à renda, a amostra foi classificada em grupos, onde o grupo 1 composto por indivíduos que recebiam até 4 salários mínimos; o grupo 2, composto por indivíduos que obtinham renda entre 5 e 10 salários mínimos; e grupo 3 continha indivíduos com renda superior a 10 salários mínimos.

Em relação à escolaridade, a amostra foi classificada em grupo 1, 2 e 3, onde os indivíduos apresentavam formação até primeiro grau, formação de até segundo grau e formação superior, respectivamente:

Em relação à exposição solar, a amostra foi classificada em grupo 1, composto pelos indivíduos que apresentavam uma exposição média de até 1 hora por dia; grupo 1,5 aqueles que se expunham entre 1 e 2 horas por dia ao sol e grupo 3 aqueles que apresentavam uma exposição superior a 2 horas diárias. A hora da exposição não foi levada em consideração.

#### 4.5 AVALIAÇÃO LABORATORIAL

##### 4.5.1 Dosagem de PTHi

As dosagens de paratormônio foram realizadas através da técnica de eletroquimioluminescência da Roche. Essa técnica foi desenvolvida no início da década de 90 para minimizar as limitações das demais técnicas existentes. O conjunto diagnóstico fornecido pela Roche é um ensaio eletroquimioluminescente (ECLIA) baseado no equipamento automatizado Elecsys 2100. Emprega como anticorpo de captura um monoclonal amino-terminal específico biotilado, e o anticorpo de revelação é outro monoclonal marcado com rutênio. O processo de separação emprega partículas magnéticas recobertas com estreptavidina. O tempo de incubação é de 18 minutos, a sensibilidade analítica é de 1,2 ng/L e os valores de referência aceitos são entre 15 e 65 ng/L. A especificidade do anticorpo amino-terminal específico é dirigida contra o segmento 26-32 da molécula, e sua reatividade cruzada com a seqüência de PTH (7-84) é de 100%<sup>(33)</sup>.

##### 4.5.2 Dosagem de cálcio total, albumina, creatinina e uréia

As dosagens bioquímicas foram realizadas em Vitros<sup>®</sup> 950 Johnson & Johnson. Ao contrário das dosagens realizadas empregando a química tradicional, com reagentes e

soluções líquidas as dosagens realizadas em nosso estudo com esse método foram realizadas através de química seca.

A dosagem do cálcio total utilizando os slides de química seca empregados nesse método ocorre pela passagem da amostra através das múltiplas camadas desse slide. O cálcio fixo é dissociado das proteínas ligantes, penetrando na camada de reagente subjacente. Uma vez nesse local o cálcio forma um complexo com o corante Arsenazo III, induzindo um desvio do máximo de absorção. Posteriormente à incubação, a densidade do reflexo do complexo corante é mensurada por espectrofotometria, onde a quantidade do complexo corante é proporcional à concentração de cálcio na amostra. Para esta análise foi adotada o valor de referência entre 8,4 – 10,2 mg/dL<sup>(34)</sup>.

A dosagem da albumina ocorre quando, a partir do momento que a amostra alcança a camada de reagente, o corante verde de bromocresol espalha-se para a camada de dispersão e liga-se à albumina da amostra. Com esta ligação ocorre um desvio do comprimento de onda da reflectância máxima do corante livre. O complexo de cor formado é medido por espectrofotometria de reflectância, onde a quantidade de corante ligado à albumina é proporcional à concentração de albumina na amostra. Para esta análise foi adotada o valor de referência entre 3,5 – 5,0 g/dL<sup>(35)</sup>.

A dosagem de creatinina ocorre após a amostra do indivíduo atingir a camada reagente do slide. Quando a creatinina contida na amostra alcança essa camada ocorre um processo de hidrólise, sendo transformada em creatina. A creatinina é convertida em sarcosina e uréia pela creatina amiinohidrolase. Essa substância, a sarcosina, na presença da oxidase de sarcosina, é oxidada dando origem à glicina, formaldeído e peróxido de hidrogênio. Por último, o corante leuco é oxidado pelo peróxido de hidrogênio sob incubação no slide. Durante a fase reacional inicial, a creatina endógena na amostra é oxidada. A alteração final na densidade do reflexo é medida em 2 pontos com tempos distintos. A diferença de densidade do reflexo é proporcional à concentração de creatinina na amostra. Para esta análise foi adotada o valor de referência entre 0,65 – 1,25 mg/dL<sup>(36)</sup>.

A mensuração da uréia ocorre quando a água e os componentes não protéicos migram para a camada de reagente subjacente, onde a reação da urease produz amônia. A membrana semi-permeável permite que apenas a amônia permeie para a camada formadora de cor, onde reage com o indicador para dar origem ao corante. A densidade do reflexo do corante medida

é proporcional à concentração de uréia presente na amostra. Para esta análise foi adotada o valor de referência entre 19 – 43 mg/dL<sup>(37)</sup>.

#### 4.5.3 Vitamina D

A dosagem da vitamina D ocorreu no laboratório de Toxicologia da Universidade Feevale por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), seguindo protocolo validado em estudo de Kich et al<sup>(38)</sup>.

Após desproteinização de 500 µL de plasma com etanol, o metabólito foi isolado da matriz através de extração em fase sólida (EFS). A EFS foi realizada em cartuchos octilsílica, contendo 500 mg de fase estacionária. Neste procedimento, os cartuchos de extração foram condicionados com metanol e água, lavados com água ultrapura e uma mistura de metanol e água, sendo posteriormente finalmente eluídos com metanol, o qual foi evaporado até a secura. O extrato seco foi retomado com uma solução metanólica do padrão interno (dodecanofenona). A solução resultante foi injetada em uma coluna Lichrospher® C18 (Merck) com 250 x 4,0 mm (d.p. 5 µm), a qual foi mantida a 52°C. A eluição foi realizada com fase móvel constituída de acetonitrila e água ultra-purificada (77:23, v/v), com vazão de 1,2 mL min<sup>-1</sup> e monitoramento cromatográfico em 264 nm. Nestas condições o tempo total de análise cromatográfica foi de 20min, com eluição da 25-hidroxi-vitamina D<sub>3</sub> em 7,6 min e da dodecanofenona em 15,1 min. O método é linear entre 5 ng mL<sup>-1</sup> e 100 ng mL<sup>-1</sup>. A cada lote de 12 amostras clínicas foram processados controles comerciais fornecidos pela Chromsystems (Munique, Alemanha) para garantir a qualidade do resultado obtido.

Os valores de referência adotados para essa análise são os mesmos preconizados pela Sociedade americana de Endocrinologia Clínica, publicado em 2011<sup>(18)</sup>.

As soluções calibradoras foram preparadas através da diluição de 100 µL das soluções de trabalho de 25(OH)D<sub>3</sub> e 25(OH)D<sub>2</sub> com 900 µL da solução de albumina 5%, resultando em calibradores nas concentrações 100, 50, 25, 10 e 5 ng/mL. Para a construção da curva de calibração foi utilizada a média de 5 determinações de cada calibrador. A curva de calibração foi construída através do estabelecimento da correlação entre a razão das áreas dos picos referentes a 25(OH)D<sub>3</sub> ecom a área do padrão interno através de regressão linear ponderada, com fator ponderal 1/x. A curva foi avaliada com base no coeficiente de determinação (r<sup>2</sup>).

(Curvas de calibração diárias usando as mesmas concentrações (medidas únicas por concentração) foram analisadas em cada lote de amostras de validação e autênticas).

A precisão e exatidão do método foram avaliadas através de análises de amostras calibradoras contendo 25(OH)D<sub>3</sub> e 25(OH)D<sub>2</sub> nas concentrações de 160 (controle de qualidade alto, CQA), 80 (controle de qualidade médio, CQM) e 15 ng/mL (controle de qualidade baixo, CQB). As análises foram realizadas em triplicata e repetidas em 5 dias diferentes. As precisões intra-ensaios e inter-ensaios foram calculadas pela análise de variância (ANOVA) usando “dia” como viável agrupadora e foram expressas como coeficiente de variação percentual (CV%). A exatidão foi calculada através da percentagem dos valores encontrados em relação aos valores nominais de concentração. O critério de aceitação para exatidão foram valores  $\pm 15\%$  do valor nominal e para a precisão foi um CV% máximo de 15%.

Uma amostra controle na concentração do menor calibrador (10 ng/mL) foi incluída nos experimentos de precisão e exatidão, sendo processada em triplicata em três dias diferentes (controle de qualidade no limite de quantificação, CQLQ). O critério de aceitação para o limite de quantificação nesta concentração foi uma exatidão  $\pm 20\%$  do valor nominal e um CV máximo de 20%.

A eficiência da extração foi determinada comparando a área dos picos obtidos na análise das amostras de controle de qualidade baixo e médio nos experimentos de precisão e exatidão com aquelas obtidas em soluções metanólicas em concentrações correspondentes a recuperação completa, medidas em triplicata em três dias diferentes. A eficiência da extração foi expressa com porcentagem da quantidade existente na solução que referência que foi recuperada pelo procedimento de extração.

Com exceção da dosagem da vitamina D, todas as análises foram realizadas em laboratórios comerciais credenciados ao Programa Nacional de Controle de Qualidade (PNCQ), para que haja garantia na qualidade dos resultados.

#### 4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para a avaliação estatística foram utilizados apenas os valores de PTHi, cálcio e Vitamina D, já que os demais testes serviram como critérios de exclusão do estudo, na tentativa de diminuir os possíveis vieses.

Os dados obtidos desses elementos foram demonstrados através de média, porcentagem e desvio-padrão.

Para a análise dos dados foi utilizada a correlação linear e o teste do Qui-quadrado realizado no programa EpiInfo<sup>®</sup>. Foram considerados significativos os valores de  $p \leq 0,05$ .

#### 4.7 ASPECTOS ÉTICOS

O presente estudo faz parte de um projeto maior que foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da PUCRS (ANEXO C) sob número 11/05716 intitulado “Densidade óssea, níveis séricos de paratormônio e vitamina D e a sua relação com diferentes fatores de risco para baixa massa óssea em homens com lesão medular por traumatismo”. Todos os participantes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), atendendo as diretrizes e as normas de pesquisa com seres humanos – Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde [CNS] (ANEXO A).



## 5 RESULTADOS

A população do estudo foi constituída por 40 indivíduos, sendo que 1 (um) foi excluído da análise por apresentar resultados muito discrepantes de função renal e paratormônio em relação aos demais participantes. A idade média dos indivíduos que participaram do estudo foi de  $35,52 \pm 9,78$  anos, sendo o mais novo com 18 e o mais velho com 58 anos. Desses 40 participantes, 31 (78%) são paraplégicos e 9 (22%) tetraplégicos. A média de idade do grupo com paraplegia foi de  $34,41 \pm 9,82$  anos, sendo o mais novo com 18 e o mais velho com 58 anos. No grupo com tetraplegia a média etária foi de  $39,33 \pm 9,15$  anos, onde o mais novo tinha 25 e o mais velho com 55 anos.

Em relação aos dados antropométricos, foi verificado que a média geral de altura foi de  $1,76 \pm 0,08$  m, o peso de  $74,71 \pm 15,91$  Kg, com um IMC de  $24,19 \pm 5,01$  Kg/m<sup>2</sup>. Os níveis médios de cálcio foram de  $9,54 \pm 0,52$  mg/dL, vitamina D de  $19,04 \pm 6,98$  ng/mL e PTH de  $34,81 \pm 10,84$  pg/mL.

O tempo médio de lesão dos participantes foi de  $6,09 \pm 5,55$  anos, onde o menor tempo foi de 11 meses e o tempo maior foi de 25 anos. No grupo com tetraplegia o tempo médio de lesão foi de  $6,17 \pm 4,55$  anos, máximo de 13 anos e mínimo de 1,17 anos. No grupo paraplegia o tempo médio de lesão foi de  $6,07 \pm 5,87$  anos, máximo de 25 anos e mínimo de 11 meses.

A renda na faixa de zero a 4 salários mínimos foi verificada em 34 (85%) participantes e a escolaridade predominante foi na faixa de até o primeiro grau em 17 (42%) participantes.

Quanto ao número de medicações, 34 sujeitos (85%) utilizavam algum fármaco, onde a média de medicações utilizadas foi de 2,55 remédios por indivíduo. As características gerais da amostra estão representadas na tabela 2.

**Tabela 2.** Caracterização geral da amostra

<b>Variável</b>	<b>Total 40 (100%)</b>	<b>Paraplégicos 31 (78%)</b>	<b>Tetraplégicos 9 (22%)</b>
<b>Idade (anos)</b>	35,52 ± 9,78	34,41 ± 9,82	39,33 ± 9,15
<b>Peso (Kg)</b>	74,71 ± 15,92	73,53 ± 13,85	78,78 ± 22,16
<b>Altura (m)</b>	1,76 ± 0,09	1,75 ± 0,08	1,78 ± 0,11
<b>IMC (Kg/m<sup>2</sup>)</b>	24,19 ± 5,01	24,05 ± 4,80	24,66 ± 5,93
<b>Fármaco (unidades)</b>	2,55 ± 2,19	2,35 ± 1,88	3,22 ± 3,07
<b>Cálcio (mg/dL)</b>	9,54 ± 0,52	9,53 ± 0,51	9,60 ± 0,57
<b>Vitamina D (ng/mL)</b>	19,04 ± 6,98	20,13 ± 7,18	15,27 ± 4,92
<b>PTH (pg/mL)</b>	34,81 ± 10,84	33,43 ± 8,61	39,59 ± 16,19
<b>Tempo de lesão (anos)</b>	6,09 ± 5,55	6,07 ± 5,87	6,17 ± 4,55
<b>Renda (SM)</b>			
0-4	34 (85%)	27 (87%)	7 (78%)
5-10	3 (7,5%)	3 (10%)	0 (0%)
> 10	3 (7,5%)	1 (3%)	2 (22%)
<b>Escolaridade</b>			
Até primeiro grau	17 (42%)	14 (45%)	3 (33%)
Até segundo grau	16 (40%)	13 (42%)	3 (33%)
Superior	7 (18%)	4 (13%)	3 (33%)

Fonte: O Autor, 2013

Média ± desvio padrão estão descritas para idade, peso, altura, IMC, cálcio, vitamina D e PTH; SM = salário mínimo

Quando avaliados os sujeitos em relação aos níveis de vitamina D, verificou-se que o tempo de exposição solar superior a 2 horas diárias mostrou níveis mais elevados de vitamina D em relação a um tempo de exposição de até 1 hora por dia ( $p=0,001$ ). Ainda nessa avaliação foi visto que os indivíduos com renda entre 5 e 10 salários mínimos apresentavam valores sanguíneos mais elevados de vitamina D quando comparados aos indivíduos que com renda de até 1 salário mínimo ( $p=0,021$ ). Foi verificado também diferença estatística no tempo de lesão e vitamina D em modelo multivariado ( $p=0,029$ ), conforme demonstrado na tabela 3.

**Tabela 3.** Influência do tempo de lesão e níveis de vitamina D ajustada para exposição ao sol, classe de renda e nível de escolaridade.

Variável	Modelo univariado		Modelo multivariado	
	C.R.	<i>p</i>	C.R.	<i>p</i>
<b>Tempo de lesão e Vitamina D</b>	-0,332	0,100	-0,424	<b>0,029</b>
<b>Exposição ao sol</b>				
Entre 1 – 2 horas			3,302	0,137
< 1 hora				
<b>Exposição ao sol</b>				
> 2 horas			10,724	<b>0,001</b>
< 1 hora				
<b>Renda</b>				
5 a 10 SM			9,233	<b>0,021</b>
< 4 SM				
<b>Renda</b>				
> 10 SM			3,148	0,429
< 4 SM				
<b>Escolaridade</b>				
Segundo grau			-2,267	0,291
Até primeiro grau				
<b>Escolaridade</b>				
Superior			-3,887	0,208
Até primeiro grau				
<b>Correlação</b>	0,07		0,46	

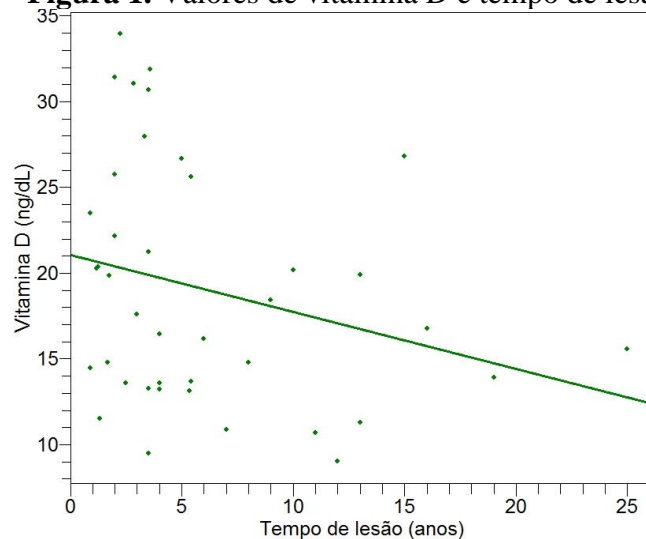
Fonte: O Autor, 2013

Regressão linear: tempo de lesão (anos) e vitamina D (ng/dL)

SM= salários mínimos

Quanto ao tempo médio de lesão medular e níveis de vitamina D, estes se mostraram mais baixos conforme um maior tempo de lesão, embora esta diferença não seja significativa ( $p=0,100$ ). Este dado está representado na figura 1.

**Figura 1.** Valores de vitamina D e tempo de lesão medular



$p=0,100$

Fonte: O Autor, 2013

Avaliando as concentrações séricas de PTH, em análise univariada e multivariada, estas foram mais elevadas no grupo com renda superior a 10 salários mínimos quando comparado com o grupo com renda de até 4 salários mínimos ( $p < 0,005$ ). Não foram verificadas diferenças quanto aos níveis de PTH em relação à escolaridade, exposição solar e demais faixas de renda (Tabela 4).

**Tabela 4.** Influência do tempo de lesão e níveis séricos de paratormônio ajustada para exposição ao sol, classe de renda e nível de escolaridade.

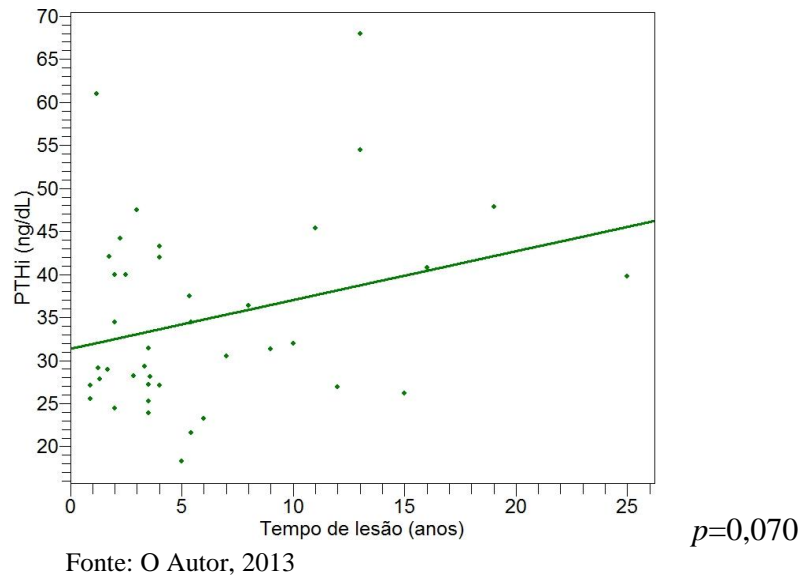
Variável	Modelo univariado		Modelo multivariado	
	C.R.	p	C.R.	p
<b>Tempo de lesão e PTH</b>	0,567	0,070	0,253	0,381
<b>Exposição ao sol</b>				
Entre 1 – 2 horas < 1			1,179	0,725
<b>Exposição ao sol</b>				
> 2 horas < 1			-2,732	0,555
<b>Renda</b>				
5 – 10 SM < 4 SM			-0,468	0,937
<b>Renda</b>				
> 10 SM < 4 SM			27,280	<b>&lt;0,005</b>
<b>Escolaridade</b>				
Segundo grau Até primeiro grau			-4,452	0,180
<b>Escolaridade</b>				
Ensino superior Até primeiro grau			-5,520	0,244
<b>Correlação</b>	0,08		0,48	

Fonte: O Autor, 2013

Regressão linear: tempo de lesão (anos) e PTHi (pg/mL)

SM = salários mínimos

Quanto ao tempo médio de lesão medular e níveis de paratormônio, estes se mostraram mais altos conforme um maior tempo de lesão, embora esta diferença não seja significativa ( $p=0,070$ ). Este dado está representado na figura 2.

**Figura 2.** Valores de PTH e tempo de lesão medular

Em relação aos níveis séricos do cálcio total com o tempo de lesão medular, exposição solar, renda e escolaridade, não foram verificadas diferenças nos níveis deste elemento com as variáveis citadas (Tabela 5).

**Tabela 5.** Influência do tempo de lesão e níveis séricos de cálcio total ajustada para exposição ao sol, classe de renda e nível de escolaridade.

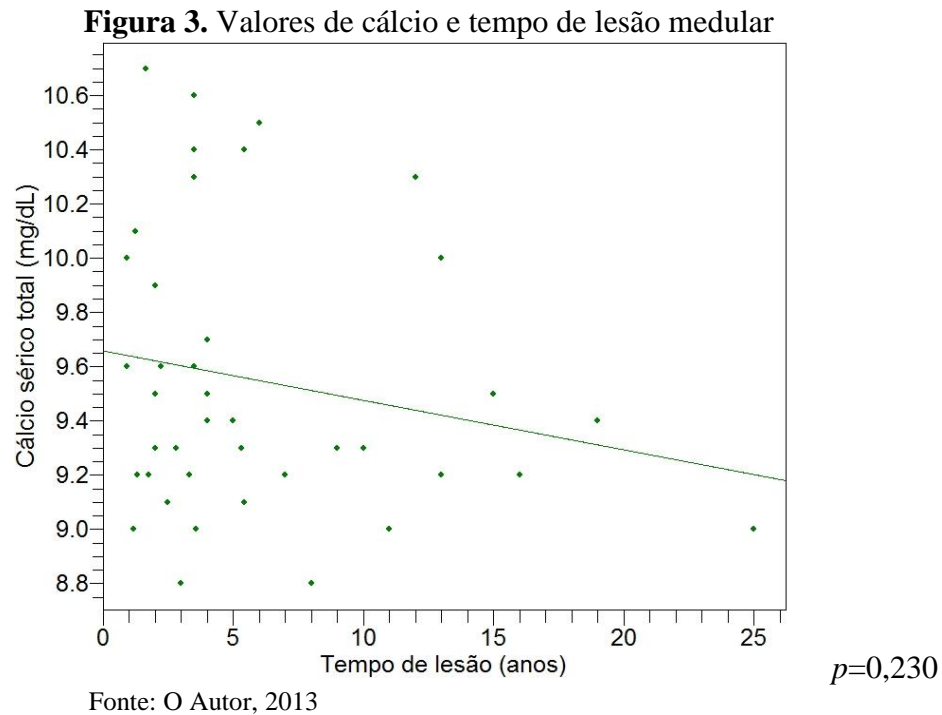
Variável	Modelo univariado		Modelo multivariado	
	C.R.	p	C.R.	p
<b>Tempo de lesão (anos)</b>	-0,018	0,230	-0,013	0,449
<b>Exposição ao sol</b>				
Entre 1 – 2 horas			0,204	0,313
< 1 hora				
<b>Exposição ao sol</b>				
> 2 horas			-0,195	0,482
< 1 hora				
<b>Renda</b>				
5 – 10 SM			-0,529	0,142
< 4 SM				
<b>Renda</b>				
> 10 SM			-0,437	0,236
< 4 SM				
<b>Escolaridade</b>				
Segundo grau			-0,133	0,500
Até primeiro grau				
<b>Escolaridade</b>				
Superior			0,213	0,449
Até primeiro grau				
<b>Correlação</b>	0,08		0,19	

Fonte: O Autor, 2013

Regressão linear: tempo de lesão (anos) e cálcio total (mg/dL)

SM = salários mínimos

Quanto ao tempo médio de lesão medular e níveis séricos de cálcio total, foi constatado que conforme um maior tempo de lesão, os valores diminuíam, embora esta diferença não tenha significância ( $p=0,230$ ). Este dado está representado na figura 3.



Quando o grupo de participantes foi avaliado em relação ao tipo de lesão medular (completa ou incompleta) a média de vitamina D no grupo com lesão medular completa foi de  $20 \pm 6,54$  ng/mL, enquanto que no grupo com lesão incompleta a concentração média de vitamina D foi de  $17,5 \pm 7,58$  ng/mL, não apresentando diferença significativa entre os dois grupos ( $p=0,276$ ). Na avaliação quanto ao tipo de lesão e a relação com os valores de paratormônio foi obtido uma média superior no grupo com lesão incompleta, contudo não foi estatisticamente significativa ( $p=0,756$ ). Quando as mesmas análises foram realizadas para um modelo com cálcio sérico não foi encontrada nenhuma diferença estatística significativa. Todos os dados encontram-se na tabela 6.

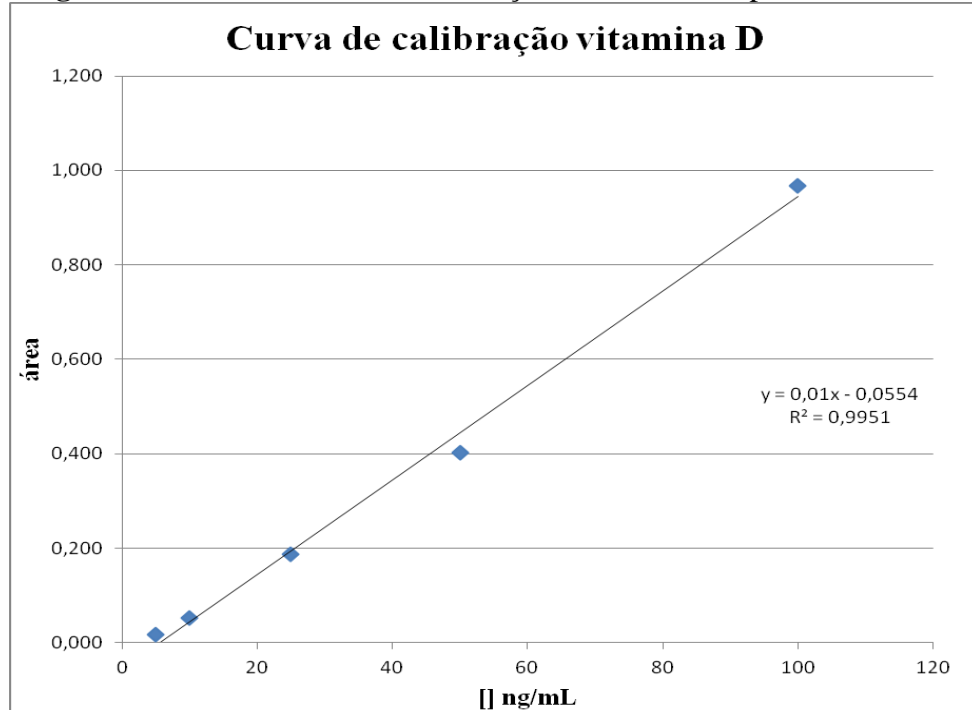
**Tabela 6.** Relação dos níveis de vitamina D, paratormônio e cálcio total dividido por grupo de lesão medular completa e lesão medular incompleta.

Variável	Lesão Completa n=24 média $\pm$ dp	Lesão Incompleta n=16 média $\pm$ dp	<i>p</i>
Vitamina D (ng/mL)	$20,0 \pm 6,54$	$17,5 \pm 7,58$	0,276
PTHi (pg/mL)	$34,37 \pm 10,39$	$35,47 \pm 11,80$	0,756
Cálcio total (mg/dL)	$9,47 \pm 0,50$	$9,65 \pm 0,54$	0,316

Fonte: O Autor, 2013  
dp= desvio-padrão

Os resultados obtidos para validação e a curva de calibração da técnica de dosagem de vitamina D em plasma estão demonstrados na figura 4:

**Figura 4.** Gráfico da curva de calibração de vitamina D por HPLC-DAD



Fonte: O Autor, 2013

## 6 DISCUSSÃO

Com o envelhecimento populacional em crescimento acelerado, algumas condições e doenças vêm despertando o interesse das diversas áreas relacionadas à saúde. Dentro do grupo de doenças que merece destaque está a osteoporose e a osteopenia, principalmente pela morbidade e mortalidade que estão relacionadas a essas condições<sup>(39)</sup>.

Nos últimos anos, a perda óssea e osteoporose tem sido foco de interesse das áreas voltadas para o estudo do metabolismo ósseo de uma maneira mais intensa, principalmente, porque o envelhecimento populacional já é, por si, um fator de risco para o desenvolvimento desta doença e pelos elevados custos relacionados ao tratamento e manejo das complicações geradas pelas fraturas<sup>(40)</sup>.

Apesar de alterações de massa óssea ter uma relação maior, além do idoso, também com o sexo feminino, a redução da densidade óssea é multifatorial, incluindo fatores genéticos, hábitos de vida, uso de fármacos e doenças associadas, que podem afetar qualquer indivíduo, independente do sexo<sup>(40, 41)</sup>. Neste aspecto, merece destaque o maior número de publicações envolvendo alterações de massa óssea no sexo masculino.

Neste contexto, condições como o avanço da idade, má alimentação, deficiência de vitamina D e baixa mobilidade e sedentarismo são alguns fatores que podem contribuir para a diminuição da massa óssea<sup>(18, 42, 43)</sup>. Dentro desta linha relacionada à baixa ou nenhuma atividade física ou mobilidade, que são pertinentes aos indivíduos com lesão medular, onde, a partir do momento da lesão somado ao avanço da idade e outras condições de saúde concomitantes, pode-se admitir que os indivíduos com lesão medular, independentemente da idade, são um grupo propenso à perda da densidade mineral óssea. Assim, observando a literatura, ainda tímida, a respeito do metabolismo ósseo em indivíduos com lesão medular, buscamos iniciar o processo desse conhecimento com indivíduos oriundos da nossa região.

Segundo estudo realizado por Ackery et al<sup>(2)</sup> ocorrem aproximadamente 10.000 a 14.000 casos novos de lesão medular por ano nos Estados Unidos. No Brasil, segundo dados obtidos por Coura et al<sup>(44)</sup>, os autores relatam a existência de cerca de 130 mil pessoas com lesão medular. Em 2007, o Sistema Único de Saúde (SUS) atendeu 832.858 usuários que foram internados por causas externas, incluindo os classificados como lesados medulares<sup>(44)</sup>. Deste grupo, o que chama a atenção, é que a maioria é composta por indivíduos jovens, com média de 30 anos<sup>(7)</sup>. Estes dados são semelhantes aos encontrados em nosso estudo, onde a



idade média dos indivíduos avaliados foi de 35 anos e também nos achados de Nogueira et al<sup>(45)</sup> em estudo realizado em São Paulo com 59 sujeitos, que mostrou uma média etária de 37 anos, assim como Opperman et al<sup>(46)</sup> e em outros estudos publicados com indivíduos com lesão medular.<sup>(44, 47)</sup>

Outro fator relevante encontrado em nosso estudo que corrobora com os achados na literatura, é a baixa concentração de vitamina D nesses indivíduos. Conforme dados atuais publicados, existe uma pandemia de hipovitaminose D, fato que ocorre tanto em homens como em mulheres, sejam eles ativos fisicamente ou não. A média de vitamina D encontrada em nosso estudo foi de 19,04 ng/mL o que, segundo *guideline* publicado recentemente por Hollick et al<sup>(18)</sup>, são valores classificados como deficientes, acompanhando a tendência encontrada em diferentes populações, inclusive, no Brasil, mais especificamente em São Paulo, onde cerca de 40% da população socialmente ativa e sem lesão medular, apresenta valores abaixo do recomendado.<sup>(48)</sup> Esse achado vai de encontro aos publicados por Bauman<sup>(20, 49)</sup> em sujeitos com lesão medular, onde foi verificado uma concentração média de vitamina D de 14 ng/mL.

Fato que merece destaque e, de certo modo já esperado, foi em relação ao tempo de lesão, que atuou de forma negativa sobre as concentrações de vitamina D nos indivíduos participantes. Este achado pode estar diretamente relacionado aos hábitos de vida adquiridos pelos participantes do estudo após a lesão, pois o trauma raquimedular é uma condição complexa que traz alterações biopsicossociais<sup>(45)</sup>.

Como já é conhecido, os níveis de vitamina D no organismo dependem, em sua grande maioria, da exposição aos raios solares UV B, que irão dar início a todo o processo de síntese da forma ativa da vitamina D (25-OH-vitamina D), através de seu substrato 7-deidrocolesterol, na epiderme.<sup>(18, 50, 51)</sup>

Nos indivíduos com lesão medular, fato relatado pelos próprios indivíduos, ocorre uma maior dificuldade de locomoção, o que pode levar a uma privação dos raios solares, fato que ficou evidente quando comparamos os indivíduos, independentemente do tempo de lesão, à exposição solar. Fato que se mostra concordante com a literatura é que os indivíduos com uma exposição solar superior a 2 horas por dia apresentaram níveis médios de vitamina D maiores em relação aqueles com uma exposição de até uma hora por dia.<sup>(42)</sup> Ainda em relação aos níveis de vitamina D, verificou-se que a condição de cada indivíduo influenciou os valores dessa vitamina, uma vez que esses valores foram ainda mais reduzidos no grupo com

tetraplegia, chegando a uma média de aproximadamente 15,27 ng/mL. Esse achado reforça que a relação existente entre baixa concentração de vitamina D e dificuldade de mobilidade pode ter uma influência negativa neste contexto, sendo necessária a atenção do familiar ou a presença de um cuidador para esse indivíduo, para poder reforçar o tempo de exposição solar.

Embora o eixo Vitamina D-cálcio-PTH seja afetado imediatamente após a ocorrência da lesão medular fazendo com que, decorrente da imobilização, haja um processo de desmineralização óssea acelerado, aumento da calcemia e, conseqüentemente, suprimindo a secreção de paratormônio e a vitamina D<sup>(52)</sup>, a privação solar parece explicar melhor a diminuição dos níveis de vitamina D através do tempo de lesão em nosso grupo.<sup>(52)</sup> Adicionalmente deve ser levado em consideração que alguns fármacos utilizados por estes indivíduos, para controle das complicações decorrentes da lesão medular, podem acelerar a hidroxilação da vitamina D, podendo contribuir para a baixa quantificação desse elemento no organismo.<sup>(49)</sup>

Outro resultado interessante que obtivemos em nosso grupo foi a constatação de que indivíduos com renda entre 5 e 10 salários mínimos apresentaram valores de vitamina D superiores em relação aos que recebiam até um salário mínimo. Este fato se mostra coerente, pois, como esperado por nós, indivíduos com uma melhor condição socioeconômica poderiam ter uma melhor percepção de sua saúde e com isso valores mais elevados de vitamina D estariam presentes através de hábitos de vida mais saudáveis, como melhor alimentação e exposição solar. Entretanto, quando realizamos a avaliação da concentração de vitamina D e o nível de escolaridade, não foi encontrada uma correlação entre esses parâmetros.

Quando comparamos os níveis séricos do paratormônio e o tempo de lesão observamos uma relação positiva. Como abordado anteriormente, imediatamente após a lesão ocorre uma supressão do eixo PTH-Vitamina D, contudo, passada a fase aguda da lesão inicia-se um aumento nos níveis séricos de paratormônio. Em comparação aos dados médios de paratormônio basal obtidos por Bauman (em torno de 70,0 pg/mL)<sup>(20)</sup>, foram encontrados por nós valores mais baixos (em torno de 34,81 pg/mL), com exceção de um único indivíduo que foi retirado da análise por apresentar valores alterados da função renal, mais especificamente da uréia e creatinina. Ainda em comparação a outro estudo realizado por Bauman et al<sup>(53)</sup>, os valores médios de PTH encontrados em nossa amostra foram semelhantes aos encontrados pelos autores, que foram em torno de 38,0 pg/mL, embora o tempo médio de lesão dos participantes do nosso estudo foi de aproximadamente 6,09 anos, menor do que o

encontrado neste estudo de Bauman et al, que foi de 20 anos. Da mesma forma que no estudo de Mechanick et al<sup>(54)</sup>, foi encontrado por nós uma média menor de PTH nos indivíduos com lesão completa quando comparados aqueles com lesão incompleta, porém sem significância estatística.

Embora o hiperparatireoidismo seja uma complicação mais comum de indivíduos com comprometimento da função renal submetidos à hemodiálise<sup>(55)</sup>, a relação entre vitamina D, cálcio total e vitamina D deve ser observada, já que o hiperparatireoidismo secundário pode ser estabelecido nesses indivíduos com imobilidade prolongada somada à deficiência de vitamina D<sup>(49)</sup>. Além de patologias endócrinas, como é o caso do hiperparatireoidismo secundário, a hipovitaminose D pode atuar de forma negativa sob aspectos diferentes. A osteomalácia, patologia que envolve diretamente o tecido ósseo, pode acometer esses indivíduos, além de fraqueza muscular e outras complicações que recentemente tem sido atribuídas à deficiência de vitamina D<sup>(56)</sup>, podendo diminuir a massa óssea e influenciando a qualidade de vida.

Em nosso estudo, os parâmetros albumina, creatinina e uréia foram utilizadas como coadjuvantes para a avaliação de alterações da função renal e variações nas concentrações de cálcio total, já que este analito é ligado à albumina nessa forma. Como encontrado no estudo de Bauman et al<sup>(53)</sup>, não identificamos qualquer anormalidade nas concentrações de albumina na amostra avaliada.

Importante ressaltar que o cálcio ionizado é o que melhor demonstra o *status* calcêmico de um indivíduo<sup>(57, 58)</sup>, porém optamos por utilizar a dosagem de cálcio total por este apresentar uma maior estabilidade e ser amplamente utilizado na prática clínica, além de fornecer informação de qualidade sobre a concentração desse elemento no organismo<sup>(57)</sup>.

Embora a hipercalcemia possa ser mais facilmente desenvolvida em situações que envolvem plegia recente, ter uma maior relação com o sexo masculino e com lesões medulares de nível mais alto (cervical)<sup>(52)</sup>, condições presentes na população do nosso estudo, os valores de cálcio total encontrados foram em torno de 9,54 mg/dL. Todos os sujeitos participantes do nosso estudo eram normocalcêmicos, embora os valores do nosso estudo se mostrarem mais elevados que os encontrados no estudo de Bauman et al<sup>(49)</sup>.

Um fator interessante a respeito do estudo realizado foi o método utilizado para dosagem da vitamina D. A técnica de dosagem da 25-hidroxivitamina D por HPLC-DAD, baseada no estudo de Kich et al<sup>(38)</sup>, mostrou-se precisa e exata com sensibilidade adequada

para a quantificação da vitamina D. Existem inúmeros métodos comerciais de dosagem da vitamina D, mais especificamente a 25-hidroxivitamina D<sup>(43, 59)</sup>, apresentando vantagens e desvantagens. Contudo, a literatura demonstra uma variabilidade elevada<sup>(59)</sup> entre essas técnicas, podendo dar origem a interpretações equivocadas quanto à quantificação da vitamina D. Embora existam artigos com opiniões divergentes quanto ao método mais adequado, na maior parte, os estudos citam a cromatografia líquida de alta eficiência como sendo um dos melhores métodos, por apresentar uma elevada acurácia<sup>(59)</sup>, já que estudos citam que outros métodos, como ensaio competitivo de proteína ligante, superestimam os valores desse analito<sup>(60)</sup>.

## 7 CONCLUSÃO

Em relação ao estudo envolvendo sujeitos com lesão medular por traumatismo e níveis de paratormônio e vitamina D pode-se concluir que:

- Os níveis de vitamina D foram mais elevados com um tempo de exposição solar superior a 2 horas por dia;
- Os níveis de vitamina D foram mais baixos nos indivíduos com um maior tempo de lesão medular;
- Indivíduos com renda entre 5 e 10 salários mínimos apresentaram valores de vitamina D superiores quando comparados aqueles com renda de até 4 salários mínimos;
- Indivíduos com renda superior a 10 salários mínimos apresentaram valores séricos de paratormônio mais elevados quando comparados aos indivíduos com renda de até 4 salários mínimos;
- A concentração média de vitamina D encontrada nos sujeitos está na faixa classificada como deficiente.

## REFERÊNCIAS

1. Miyahara K, Wang DH, Mori K, Takahashi K, Miyatake N, Wang BL, et al. Effect of sports activity on bone mineral density in wheelchair athletes. *J Bone Miner Metab.* 2008;26(1):101-6.
2. Ackery A, Tator C, Krassioukov A. A global perspective on spinal cord injury epidemiology. *J Neurotrauma.* 2004;21(10):1355-70.
3. Bryson JE, Gourlay ML. Bisphosphonate use in acute and chronic spinal cord injury: a systematic review. *J Spinal Cord Med.* 2009;32(3):215-25.
4. Frotzler A, Berger M, Knecht H, Eser P. Bone steady-state is established at reduced bone strength after spinal cord injury: a longitudinal study using peripheral quantitative computed tomography (pQCT). *Bone.* 2008;43(3):549-55.
5. Francis RM, Anderson FH, Patel S, Sahota O, van Staa TP. Calcium and vitamin D in the prevention of osteoporotic fractures. *QJM.* 2006;99(6):355-63.
6. Sharan K, Siddiqui JA, Swarnkar G, Chattopadhyay N. Role of calcium-sensing receptor in bone biology. *Indian J Med Res.* 2008;127(3):274-86.
7. Bambakidis NC, Butler J, Horn EM, Wang X, Preul MC, Theodore N, et al. Stem cell biology and its therapeutic applications in the setting of spinal cord injury. *Neurosurgical Focus.* 2008;24(3-4):E20.
8. da Paz AC, Beraldo PS, Almeida MC, Neves EG, Alves CM, Khan P. Traumatic injury to the spinal cord. Prevalence in Brazilian hospitals. *Paraplegia.* 1992;30(9):636-40.
9. Jackson AB, Dijkers M, Devivo MJ, Poczatek RB. A demographic profile of new traumatic spinal cord injuries: change and stability over 30 years. *Arch Phys Med Rehabil.* 2004;85(11):1740-8.
10. Kaminsky E. Transplante de células mononucleares da medula óssea em um modelo experimental de lesão da medula espinhal. [dissertação]. Porto Alegre (RS): Pontifícia Universidade Católica do Rio grande do Sul; 2011.
11. Bareyre FM. Neuronal repair and replacement in spinal cord injury. *J Neurol Sci.* 2008;265(1-2):63-72.
12. Pan HC, Cheng FC, Lai SZ, Yang DY, Wang YC, Lee MS. Enhanced regeneration in spinal cord injury by concomitant treatment with granulocyte colony-stimulating factor and neuronal stem cells. *J Clin Neurosci.* 2008;15(6):656-64.
13. Suzuki A, Sekiguchi S, Asano S, Itoh M. Pharmacological topics of bone metabolism: recent advances in pharmacological management of osteoporosis. *J Pharmacol Sci.* 2008;106(4):530-5.

14. Gracitelli MEC, Vidoris AAC, Luba R, Lazaretti-Castro M. Paratormônio e osteoporose: encontrando o fio da meada. *Bases fisiológicas para utilização do PTH no tratamento da osteoporose. Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2002;46:215-20.
15. Bracco OL, Kayath MrJ, Vieira JGH. Hormônio da paratireóide (1-34) no tratamento da osteoporose. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2003;47:285-91.
16. Carrillo-Lopez N, Fernandez-Martin JL, Cannata-Andia JB. The role of calcium, calcitriol and their receptors in parathyroid regulation. *Nefrologia.* 2009;29(2):103-8.
17. Kamel HK. Postmenopausal osteoporosis: etiology, current diagnostic strategies, and nonprescription interventions. *J Manag Care Pharm.* 2006;12(6 Suppl A):S4-9; quiz S26-8.
18. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, et al. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an endocrine society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011 July 1, 2011;96(7):1911-30.
19. Bauman WA, Spungen AM, Wang J, Pierson RN, Jr., Schwartz E. Continuous loss of bone during chronic immobilization: a monozygotic twin study. *Osteoporos Int.* 1999;10(2):123-7.
20. Bauman WA, Zhang RL, Morrison N, Spungen AM. Acute suppression of bone turnover with calcium infusion in persons with spinal cord injury. *J Spinal Cord Med.* 2009;32(4):398-403.
21. de Bruin ED, Vanwanseele B, Dambacher MA, Dietz V, Stussi E. Long-term changes in the tibia and radius bone mineral density following spinal cord injury. *Spinal Cord.* 2005;43(2):96-101.
22. Carvalho DCLd, Cliquet Jr A. Investigação das alterações osteo-metabólicas e cardio-respiratórias ocorridas após o treinamento de marcha sob estimulação elétrica neuromuscular em pacientes tetraplégicos. *Acta Ortop Bras.* 2006;14(3):141-7.
23. Bauman WA, Kirshblum S, Cirnigliaro C, Forrest GF, Spungen AM. Underestimation of bone loss of the spine with posterior-anterior dual-energy X-ray absorptiometry in patients with spinal cord injury. *J Spinal Cord Med.* 2010;33(3):214-20.
24. Jiang SD, Dai LY, Jiang LS. Osteoporosis after spinal cord injury. *Osteoporos Int.* 2006;17(2):180-92.
25. Vaziri ND, Pandian MR, Segal JL, Winer RL, Eltorai I, Brunnemann S. Vitamin D, parathormone, and calcitonin profiles in persons with long-standing spinal cord injury. *Arch Phys Med Rehabil.* 1994;75(7):766-9.
26. Jones LM, Goulding A, Gerrard DF. DEXA: a practical and accurate tool to demonstrate total and regional bone loss, lean tissue loss and fat mass gain in paraplegia. *Spinal Cord.* 1998;36(9):637-40.

27. Wilmet E, Ismail AA, Heilporn A, Welraeds D, Bergmann P. Longitudinal study of the bone mineral content and of soft tissue composition after spinal cord section. *Paraplegia*. 1995;33(11):674-7.
28. Garland DE, Adkins RH, Stewart CA. Five-year longitudinal bone evaluations in individuals with chronic complete spinal cord injury. *J Spinal Cord Med*. 2008;31(5):543-50.
29. Chow YW, Inman C, Pollintine P, Sharp CA, Haddaway MJ, el Masry W, et al. Ultrasound bone densitometry and dual energy X-ray absorptiometry in patients with spinal cord injury: a cross-sectional study. *Spinal Cord*. 1996;34(12):736-41.
30. Garland DE, Stewart CA, Adkins RH, Hu SS, Rosen C, Liotta FJ, et al. Osteoporosis after spinal cord injury. *J Orthop Res*. 1992;10(3):371-8.
31. Oleson CV, Patel PH, Wuermsler LA. Influence of season, ethnicity, and chronicity on vitamin D deficiency in traumatic spinal cord injury. *J Spinal Cord Med*. 2010;33(3):202-13.
32. Laboratorial SBdPCM. Recommendations of the Brazilian Society of Clinical Pathology/Laboratory Medicine for venous blood collection: Editora Monole Ltda.; 2010.
33. Vieira JGH, Nishida SK, Camargo MT, Obara LH, Kunii IS, Ohe MN, et al. Valores de paratormônio obtidos com ensaios imunométricos dependem da especificidade do anticorpo amino terminal empregado. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2004;48:518-24.
34. Company JJ. Lâminas Ca Vitros Chemistry Products [bula]. Reino Unido.
35. Company JJ. Lâminas ALB Vitros Chemistry Products [bula]. Reino Unido.
36. Company JJ. Lâminas CREA Vitros Chemistry Products [bula]. Reino Unido.
37. Company JJ. Lâminas BUN/UREA Vitros Chemistry Products [bula]. Reino Unido.
38. Kich DM, Vieira FAdS, Bassuino M, Linden R. Determinação de 25-hidroxivitamina D2 e D3 em plasma por CLAE-DAD. *J Bras Patol Med Lab*. 2012;48(5):329-36.
39. Jeon YK, Lee JG, Kim SS, Kim BH, Kim SJ, Kim YK, et al. Association between bone mineral density and metabolic syndrome in pre- and postmenopausal women. *Endocr J*. 2011;58(2):87-93.
40. Dourador EB. Osteoporose senil. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 1999;43:446-51.
41. Pignotti G, Genaro P, Pinheiro M, Szejnfeld V, Martini L. Is a lower dose of vitamin D supplementation enough to increase 25(OH)D status in a sunny country? *Eur J Nutr*. 2009;49(5):277-83.
42. Holick MF. Vitamin D: a D-Lightful health perspective. *Nutr Rev*. 2008;66(10 Suppl):S182-S94.
43. Lai JKC, Lucas RM, Clements MS, Harrison SL, Banks E. Assessing vitamin D status: Pitfalls for the unwary. *Mol Nutr Food Res*. 2010;54(8):1062-71.



44. Coura AS, Franca IS, Enders BC, Barbosa ML, Souza JR. Functional disability of adult individuals with spinal cord injury and its association with socio-demographic characteristics. *Rev Lat Am Enfermagem*. 2012;20(1):84-92.
45. Nogueira PC, Rabeh SA, Caliri MH, Dantas RA, Haas VJ. Burden of care and its impact on health-related quality of life of caregivers of individuals with spinal cord injury. *Rev Lat Am Enfermagem*. 2012;20(6):1048-56.
46. Opperman EA, Buchholz AC, Darlington GA, Martin Ginis KA. Dietary supplement use in the spinal cord injury population. *Spinal Cord*. 2009;48(1):60-4.
47. Nogueira PC, Caliri MH, Haas VJ. Profile of patients with spinal cord injuries and occurrence of pressure ulcer at a university hospital. *Rev Lat Am Enfermagem*. 2006;14(3):372-7.
48. Unger MD, Cuppari L, Titan SM, Magalhães MCuT, Sasaki AL, dos Reis LM, et al. Vitamin D status in a sunny country: Where has the sun gone? *Clinical Nutrition*. 2010;29(6):784-8.
49. Bauman WA, Emmons RR, Ciriigliaro CM, Kirshblum SC, Spungen AM. An effective oral vitamin D replacement therapy in persons with spinal cord injury. *J Spinal Cord Med*. 2011;34(5):455-60.
50. Holick MF. Vitamin D: the other steroid hormone for muscle function and strength. *Menopause*. 2009;16(6):1077-8.
51. Holick MF. High Prevalence of Vitamin D Inadequacy and Implications for Health. *Mayo Clinic Proceedings*. 2006 March 1, 2006;81(3):353-73.
52. Qin W, Bauman WA, Cardozo C. Bone and muscle loss after spinal cord injury: organ interactions. *Ann N Y Acad Sci*. 2010;1211:66-84.
53. Bauman WA, Zhong YG, Schwartz E. Vitamin D deficiency in veterans with chronic spinal cord injury. *Metabolism*. 1995;44(12):1612-6.
54. Mechanick JI, Pomerantz F, Flanagan S, Stein A, Gordon WA, Ragnarsson KT. Parathyroid hormone suppression in spinal cord injury patients is associated with the degree of neurologic impairment and not the level of injury. *Arch Phys Med Rehabil*. 1997;78(7):692-6.
55. Molinari A, Verba J, Warken R, Figueiredo C, Costa A, Mengarda C, et al. Prevalência o hiperparatireoidismo secundário à IRC em Porto Alegre. *Rev AMRIGS*. 1995;39(1):53-9.
56. Pearce SH, Cheetham TD. Diagnosis and management of vitamin D deficiency. *BMJ*. 2010;340:142-7.
57. Khan AH, Jafri L. Ionized calcium cannot predict vitamin d deficiency. *Indian J Clin Biochem*. 2011;26(4):428-9.

58. Ong GS, Walsh JP, Stuckey BG, Brown SJ, Rossi E, Ng JL, et al. The importance of measuring ionized calcium in characterizing calcium status and diagnosing primary hyperparathyroidism. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97(9):3138-45.

59. Snellman G, Melhus Hk, Gedeberg R, Byberg L, Berglund L, Wernroth L, et al. Determining Vitamin D Status: a comparison between commercially available assays. *PLoS ONE.* 2010;5(7):e11555.

60. Lensmeyer GL, Wiebe DA, Binkley N, Drezner MK. HPLC method for 25-hydroxyvitamin D measurement: comparison with contemporary assays. *Clin Chem.* 2006;52(6):1120-6.

## APÊNDICE A - QUESTIONÁRIO

- Nome:
- Idade: Data de Nasc.: \_\_/\_\_/\_\_\_\_
- Peso: Altura:
- Usa medicamentos?
  - qual?
  - frequência
  - há quanto tempo?
- Frequência aproximada de exposição ao sol:
  - < 1 hora     1-2 horas     > 2 horas
- Pratica exercício físico? (h/semana)
  - qual?
  - frequência
  - há quanto tempo?
- Condições sócio-econômicas
  - Renda:  0-4 salários mínimos
    - 5-6 salários mínimos
    - 7-10 salários mínimos
    - > 10 salários mínimos
  - Escolaridade:
    - primeiro grau incompleto
    - primeiro grau completo
    - segundo grau incompleto
    - segundo grau completo
    - terceiro grau incompleto
    - terceiro grau completo/ pós-graduação
  - Profissão: \_\_\_\_\_
  - Como o senhor percebe sua saúde?
    - muito ruim     ruim     boa     muito boa     ótima
- O senhor apresenta alguma doença?
  - HAS     diabetes     doença renal     doença tireoidiana
  - Outra: \_\_\_\_\_
- Fuma? (maços/semana)
  - há quanto tempo?

- frequência
- Faz uso de bebidas alcoólicas? (drinks/semana)
  - qual?
  - frequência
  - há quanto tempo?
- Fraturas ósseas no passado?

Data: \_\_/\_\_/\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_

## ANEXO A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você esta sendo convidado a participar de um estudo cujo título é “Avaliação dos níveis séricos de paratormônio e vitamina D em homens com lesão medular por traumatismo”.

O objetivo principal desse estudo é o de verificar níveis sanguíneos de vitamina D, cálcio e hormônio da paratireóide (PTH) de pessoas com lesão medular por traumatismo.

A importância desse estudo se justifica pelo fato de que pessoas que apresentam este tipo de lesão, frequentemente, sofrem com uma perda óssea bastante intensa. Desse modo, a realização de estudos sobre esse assunto podem trazer maiores conhecimentos a respeito de como ocorre essa perda do osso e, assim, buscar através desses dados melhores formas de tratamento para esta situação.

Para a realização desse estudo você irá responder a algumas perguntas sobre hábitos de vida (fumo, exposição solar, prática de exercícios, etc.), hábitos alimentares e conhecimento de alguma doença no passado ou presente que possa interferir na saúde dos seus ossos. O tempo estimado para a realização destes questionários é de aproximadamente 20 minutos. Após responder essas perguntas será realizada uma coleta de sangue de aproximadamente 5 mL (1 colher de sopa) de sangue que pode deixar apenas um pequeno hematoma (roxo) no local da coleta.

O senhor não terá nenhum custo e será informado dos seus dados coletados durante a pesquisa. Para dúvidas ou esclarecimentos, o senhor poderá entrar em contato com o pesquisador Mauricio Sprenger Bassuino pelo telefone 51 99160708 ou pelo email [mauricio.bassuino@acad.pucrs.br](mailto:mauricio.bassuino@acad.pucrs.br) ou o Comitê de Ética em Pesquisa da PUCRS pelo telefone 3320 3345.

Eu \_\_\_\_\_ fui informado dos objetivos desta pesquisa de forma clara. Declaro que recebi todas informações a respeito do estudo e das avaliações a que serei submetido e esclareci todas as minha dúvidas. Declaro também que sei a respeito da possibilidade de abandonar a pesquisa a qualquer momento, se assim o quiser, bem como, solicitar novas explicações a respeito do que está sendo realizado na pesquisa e o andamento. Fui informado que os dados obtidos para esta pesquisa são de caráter sigiloso e serão apresentados em revistas especializadas, congressos ou meios de divulgação sempre através de códigos, nunca revelando identidade.

Desse modo, concordo em fazer parte da referida pesquisa.

\_\_\_\_\_  
Nome do participante

\_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_\_  
Data

\_\_\_\_\_  
Assinatura do participante

\_\_\_\_\_  
Assinatura do pesquisador

**ANEXO B - RECORDATÓRIO ALIMENTAR**

Nome: \_\_\_\_\_

Data nascimento: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Data coleta: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Dia da semana: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

*Anote a refeição, o local onde foi realizada e os alimentos e/ou preparações (ingredientes) consumidos nos dias anteriores (3 últimos dias). Anote as marcas comerciais, medidas caseiras, os utensílios (tipo de colher, copo, prato, etc.).*

<b>Local/horário</b>	<b>Alimentos e/ou preparações</b>	<b>Quantidades</b>	<b>Observações</b>

---

Assinatura

## ANEXO C – COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

OF. CEP- 084/12

Porto Alegre, 13 de janeiro de 2012.

Senhor Pesquisador,

O Comitê de Ética em Pesquisa da PUCRS apreciou e aprovou seu protocolo de pesquisa registro CEP 11/05716 intitulado **“Densidade óssea, níveis séricos de paratormônio e vitamina D e a sua relação com diferentes fatores de risco para baixa massa óssea em homens com lesão medular por traumatismo”**.

Salientamos que seu estudo pode ser iniciado a partir desta data.

Os relatórios parciais e final deverão ser encaminhados a este CEP.

Atenciosamente,

Prof. Dra. Virginia Minghelli Schmitt  
Coordenadora Substituta do CEP-PUCRS

Ilmo. Sr.  
Prof. Jaderson Costa da Costa  
INSCER  
Nesta Universidade

PUCRS

**Campus Central**  
Av. Ipiranga, 6690 – 3º andar – CEP: 90610-000  
Sala 314 – Fone Fax: (51) 3320-3345  
E-mail: [cep@pucrs.br](mailto:cep@pucrs.br)  
[www.pucrs.br/prppg/cep](http://www.pucrs.br/prppg/cep)

**ANEXO D - COMISSÃO CIENTÍFICA**

Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul  
INSTITUTO DE GERIATRIA E GERONTOLOGIA  
COMISSÃO CIENTÍFICA

Porto Alegre, 20 de julho de 2011.

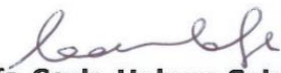
Senhor (a) Pesquisador (a) MAURICIO SPRENGER BASSUINO

A Comissão Científica do IGG apreciou e aprovou seu protocolo de pesquisa intitulado: "AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS SÉRICOS DE PARATORMÔNIO E VITAMINA D EM HOMENS COM LESÃO MEDULAR POR TRAUMATISMO".

Solicitamos que providencie os documentos necessários para o encaminhamento do protocolo de pesquisa ao Comitê de Ética em Pesquisa da PUCRS. Salientamos que somente após a aprovação deste Comitê o projeto deverá ser iniciado.

Obs.: Retirar a pasta padrão na secretaria do IGG para encaminhamento dos documentos ao Comitê de Ética em Pesquisa.

Atenciosamente,

  
**Prof. Carla Helena Schwanke**  
Coordenadora da CC/IGG

**PUCRS**

**Campus Central**

Av. Ipiranga, 6690 – P. 60 – CEP: 90.610-000

Fone: (51) 3336-8153 – Fax (51) 3320-3862

E-mail: [igg@pucrs.br](mailto:igg@pucrs.br)[www.pucrs.br/igg](http://www.pucrs.br/igg)



**ANEXO E - ARTIGO****Determinação de 25-hidroxivitamina D por HPLC e paratormônio em um grupo de indivíduos com lesão medular**

Mauricio Bassuino<sup>1</sup>; Elisa Kaminski<sup>2</sup>; Rodolfo Herberto Schneider<sup>3</sup>

Endereço para correspondência:

Mauricio Bassuino

Laboratório de Biologia Celular e Molecular – Lab. 16

Av. Ipiranga 6690 – prédio 60 – 2º andar – Porto Alegre/RS

CEP 90619-900 – Porto Alegre-RS

e-mail: [mauricio@bassuino.com](mailto:mauricio@bassuino.com)

---

<sup>1</sup> Biomédico pela Universidade Feevale, Mestrando em Gerontologia Biomédica

<sup>2</sup> Fisioterapeuta mestre em Medicina e Ciências da Saúde

<sup>3</sup> Médico geriatra e professor do Instituto de Geriatria e Gerontologia da PUCRS

## RESUMO

**Introdução:** Indivíduos com lesão medular são mais vulneráveis à perda de massa óssea, devido à reduzida atividade física e menor exposição solar, podendo refletir nos valores do paratormônio (PTH) e vitamina D. **Objetivo:** Mensurar valores séricos de PTH, cálcio e vitamina D em portadores de lesão medular por trauma. **Método:** Estudo transversal em homens portadores de lesão medular por traumatismo da Associação dos lesados medulares do Rio Grande do Sul (LEME) e Associação Canoense de Deficientes Físicos (ACADEF). Foi aplicado um questionário com dados socioeconômicos e de saúde, além da mensuração de PTH, cálcio e vitamina D. Foi utilizada a correlação linear e o teste do Qui-quadrado para a análise. **Resultados:** A idade média dos participantes foi de  $35,52 \pm 9,78$  anos. O tempo médio de lesão foi de  $6,09 \pm 5,55$  anos. A concentração média de vitamina D foi  $19,04 \pm 6,98$  ng/mL. A concentração sérica de cálcio total foi de  $9,54 \pm 0,52$  mg/dL, não havendo variação entre os indivíduos com tetra e paraplegia. Os níveis médios de paratormônio foram de  $34,81 \pm 10,84$  pg/mL. Indivíduos com exposição solar superior a 2 horas por dia apresentaram valores de vitamina D maiores em relação aos que se expunham até uma hora por dia ( $p=0,001$ ) e sujeitos com maior tempo de lesão apresentaram valores de vitamina D reduzidos ( $p=0,029$ ). **Conclusão:** A vitamina D se mostrou mais elevada nos sujeitos com tempo de exposição solar superior a 2 horas por dia e reduzida naqueles com maior tempo de lesão medular. O valor médio de vitamina D está classificado na faixa deficiente.

Palavras-chave: Lesão Medular. Vitamina D. PTH. Cálcio. Metabolismo Ósseo.

## ABSTRACT

*Determination of 25-hydroxyvitamin D by HPLC and parathyroid hormone on a group of individuals with spinal cord injury*

**Introduction:** Individuals with spinal cord injury are more vulnerable to bone loss due to reduced physical activity and lower sun exposure, which can reflect the values of parathyroid hormone (PTH) and vitamin D. **Objective:** To measure serum PTH, calcium and vitamin D in patients with spinal cord trauma. **Methods:** Cross-sectional study in men with spinal cord injury by the Associação dos lesados medulares do Rio Grande do Sul (LEME) and Associação Canoense de Deficientes Físicos (ACADEF). We used a questionnaire with socioeconomic and health data, and the measurement of PTH, calcium and vitamin D. We used a linear correlation and chi-square analysis. **Results:** The mean age of participants was  $35.52 \pm 9.78$  years. The mean lesion was  $6.09 \pm 5.55$  years. The mean concentration for vitamin D was  $19.04 \pm 6.98$  ng / mL. The serum total calcium was  $9.54 \pm 0.52$  mg / dL, with no variation between individuals with paraplegia and tetra. Mean levels of parathyroid hormone were  $34.81 \pm 10.84$  pg / mL. Individuals with sun exposure more than 2 hours per day had higher amounts of vitamin D than those who were exposed to an hour per day ( $p = 0.001$ ) and subjects with longer lesions showed reduced amounts of vitamin D ( $p = 0.029$ ). **Conclusion:** Vitamin D showed higher in subjects with time in the sun than 2 hours per day and reduced in those with longer duration of spinal cord injury. The average value of vitamin D is in the range rated poor.

**Key words:** Spinal Cord Injury. Vitamin D. PTH. Calcium. Bone Metabolism.

## INTRODUÇÃO

Alterações na massa óssea são comuns na população que envelhece, mas também está presente em grupos com maior risco, como nos indivíduos com traumatismo medular. A osteoporose é uma das patologias mais presente neste processo chegando a atingir aproximadamente 75 milhões de pessoas no mundo<sup>(20)</sup>. Essa patologia, embora mais comum em mulheres, acomete também indivíduos do sexo masculino<sup>(8)</sup>. Segundo dados brasileiros, a população propensa a desenvolver osteoporose aumentou de 7,5 milhões no ano de 1980 para 15 milhões em 2000, chegando a acometer quase 40% dos homens, sendo reconhecida como um problema de saúde pública<sup>(10)</sup>.

De fato, alguns grupos populacionais encontram-se mais suscetíveis à diminuição da densidade mineral óssea (DMO), como indivíduos idosos, mulheres após a menopausa, indivíduos institucionalizados e indivíduos com trauma raquimedular (TRM)<sup>(20)</sup>. São múltiplos os fatores que podem levar à diminuição da DMO e refletem em alterações nos elementos envolvidos no metabolismo ósseo, como o paratormônio e a vitamina D.

Atualmente, estudos populacionais têm mostrado uma endemia de hipovitaminase D em diversas regiões do planeta<sup>(10, 24)</sup>. Fatores como baixa exposição solar, idade avançada, hábitos alimentares, alterações genéticas, cor da pele, uso de bloqueadores solares e localização geográfica influenciam nas concentrações séricas de 25-hidroxivitamina D (25OHD), porção que reflete o status desse elemento no organismo<sup>(12, 24, 5)</sup>.

Considerando apenas indivíduos com TRM, o processo de desmineralização óssea pode ser favorecido por múltiplos fatores, iniciando pela inatividade de membros, somada à provável diminuição dos valores de 25OHD e ao processo de envelhecimento. Dados americanos demonstram que aproximadamente 300.000 pessoas nos Estados Unidos têm alguma consequência decorrente de lesão medular, sendo que ocorrem entre 10.000 e 14.000 novos casos por ano, a maioria envolvendo adultos jovens<sup>(1)</sup>. Em estudo realizado no Brasil por da Paz et al<sup>(7)</sup> revela que ocorrem cerca de 40 novos casos por milhão de habitantes, acarretando em 6 a 8 mil casos novos por ano. Segundo Jackson<sup>(13)</sup>, existe grande variabilidade nas causas geradoras do TRM, contudo, a causa mais comum é o acidente automobilístico (45,6%).

Apesar da imobilização decorrente do TRM ser a causa mais provável para a diminuição da DMO nesses indivíduos, a etiologia da perda óssea continua sendo motivo de discussão<sup>(13)</sup>. O padrão de perda óssea observado em indivíduos com TRM difere daquele

visto em outras circunstâncias como doenças endócrinas, idade avançada, fatores nutricionais e uso de fármacos.

Na tentativa de melhor entender como ocorre esse processo, estudos buscam verificar o comportamento dos marcadores laboratoriais relacionados ao metabolismo ósseo em indivíduos com TRM, como a vitamina D. Mesmo influenciando na fisiopatologia da perda óssea nesses indivíduos, existem divergências quanto às concentrações de 25OHD nesses sujeitos, talvez por dificuldade de padronização dos grupos ou arranjo de uma população homogênea.

É clara a importância dos marcadores laboratoriais relacionados ao metabolismo ósseo no bom prognóstico do indivíduo portador de TRM, contudo, a falta de dados oriundos da nossa população pode dificultar a prática dessa rotina.

## **OBJETIVO**

Verificar os níveis de vitamina D, paratormônio (PTH) e cálcio em indivíduos portadores de TRM e a sua relação com o tempo de lesão medular.

## **METODOLOGIA**

### **Sujeitos**

A amostra foi constituída por indivíduos do sexo masculino, portadores de TRM da Associação dos lesados medulares do Rio Grande do Sul (LEME) e Associação Canoense de Deficientes Físicos (ACADEF), Rio Grande do Sul, Brasil.

### **Crítérios de inclusão**

Indivíduos do sexo masculino com idade igual ou maior a 18 anos com paraplegia ou tetraplegia por traumatismo.

### **Crítérios de exclusão**

Indivíduos portadores de doença que interferisse no metabolismo ósseo.

## **Recrutamento dos participantes**

Todos os participantes foram contactados anteriormente ao período de coleta dos dados. Uma vez que o indivíduo estava apto para participar do estudo foi marado o dia e local para a coleta de informações e coleta sanguínea.

### **Questionário**

Questionário estruturado contendo questões relativas à idade, dados antropométricos, fatores socioeconômicos, profissão, auto avaliação de saúde, uso de fármacos, história de fraturas, doenças concomitantes e tempo de exposição solar.

## **Testes laboratoriais**

Em todos os sujeitos foram realizados os exames de paratormônio fração intacta (PTH<sub>i</sub>) (Roche<sup>®</sup>), por eletroquimioluminescência (ECLIA), com valor de referência entre 15 e 65 pg/mL. A dosagem de cálcio total, creatinina, uréia e albumina foi realizada no aparelho Vitros<sup>®</sup>950 Johnson & Johnson, por química seca e, adotando os valores de referência de 8,4 – 10,2 mg/dL para cálcio total; 3,5 – 5,0 g/dL para albumina; 19 – 43 mg/dL para uréia e 0,65 – 1,25 mg/dL para creatinina.

O metabólito 25-OH-vitamina D<sub>3</sub> foi determinado em plasma através de cromatografia líquida de alta eficiência através de um método adaptado de Kandár e Záková. Neste protocolo, após desproteinização de 500 µL de plasma com etanol, o metabólito é isolado da matriz através de extração em fase sólida (EFS). A EFS foi realizada em cartuchos octilsilica, contendo 500 mg de fase estacionária. Neste procedimento, os cartuchos de extração foram condicionados com metanol e água, lavados com água ultrapura e uma mistura de metanol e água e finalmente eluídos com metanol, o qual foi evaporado até a secura. O extrato seco foi retomado com uma solução metanólica do padrão interno (dodecanofenona). A solução resultante foi injetada em uma coluna Lichrospher<sup>®</sup> C18 (Merck) com 250 x 4,0 mm (d.p. 5 µm), a qual foi mantida a 52 °C. A eluição foi realizada com fase móvel constituída de acetonitrila e água ultra-purificada (77:23, v/v), com vazão de 1,2 mL min<sup>-1</sup> e monitoramento cromatográfico em 264 nm. Nestas condições o tempo total de análise cromatográfica foi de 20min, com eluição da 25-hidroxi-vitamina D<sub>3</sub> em 7,6 min e da dodecanofenona em 15,1 min. O método é linear entre 5 ng mL<sup>-1</sup> e 100 ng mL<sup>-1</sup>. A cada lote de 12 amostras clínicas foram processados controles comerciais fornecidos pela Chromsystems (Munique, Alemanha).

## Aspectos éticos

O presente estudo faz parte de um projeto maior que foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da PUCRS sob número 11/05716 intitulado “Densidade óssea, níveis séricos de paratormônio e vitamina D e a sua relação com diferentes fatores de risco para baixa massa óssea em homens com lesão medular por traumatismo”. Todos os participantes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), atendendo as diretrizes e as normas de pesquisa com seres humanos – Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde [CNS].

## RESULTADOS

A população do estudo foi constituída por 40 indivíduos, sendo que 1 (um) foi excluído por apresentar marcadores muito discrepantes de função renal e paratormônio em relação aos demais participantes. A idade média dos indivíduos do estudo foi de  $35,52 \pm 9,78$  anos, sendo o mais novo com 18 e o mais velho com 58 anos. Desses 40 participantes, 31 (78%) são paraplégicos e 9 (22%) tetraplégicos. A média de idade do grupo com paraplegia foi de  $34,41 \pm 9,82$  anos, sendo o mais novo com 18 e o mais velho com 58 anos. No grupo com tetraplegia a média etária foi de  $39,33 \pm 9,15$  anos, onde o mais novo tinha 25 e o mais velho com 55 anos

O tempo médio de lesão dos participantes foi de  $6,09 \pm 5,55$  anos, onde o menor tempo foi de 11 meses e o tempo maior foi de 25 anos. No grupo com tetraplegia o tempo médio de lesão foi de  $6,17 \pm 4,55$  anos, máximo de 13 anos e mínimo de 1,17 anos. No grupo paraplegia o tempo médio de lesão foi de  $6,07 \pm 5,87$  anos, máximo de 25 anos e mínimo de 11 meses.

Quanto ao número de medicações, 34 sujeitos (85%) utilizavam algum fármaco, com média de 2,55 medicações por indivíduo. As características gerais da amostra estão representadas na figura 1.

### INSERIR FIGURA 1

Quando avaliados em relação aos níveis de vitamina D, verificou-se que o tempo de exposição solar superior a 2 horas por dia mostrou níveis mais elevados de vitamina D em relação a um tempo de exposição de até 1 hora diária ( $p=0,001$ ). Sujeitos com renda entre 5 e 10 salários mínimos apresentaram valores sanguíneos mais elevados de vitamina D quando comparados aqueles com renda de até 1 salário mínimo ( $p=0,021$ ). Em análise por regressão

foi verificado que um maior tempo de lesão medular apresentou valores mais baixos de vitamina D ( $p=0,029$ ).

Quanto ao tempo médio de lesão medular e níveis de paratormônio, estes se mostraram mais elevados com um maior tempo de lesão, embora sem diferença significativa ( $p=0,070$ ). Este dado está representado na figura 2.

### **INSERIR FIGURA 2**

Quando o grupo de participantes foi avaliado em relação ao tipo de lesão medular (completa ou incompleta) a média de vitamina D no grupo com lesão medular completa foi de  $20 \pm 6,54$  ng/mL, enquanto que no grupo com lesão incompleta foi de  $17,5 \pm 7,58$  ng/mL ( $p=0,276$ ). Em relação ao tipo de lesão e valores de paratormônio foi verificada uma média superior no grupo com lesão incompleta, embora sem diferença significativa ( $p=0,756$ ). Quando as mesmas análises foram realizadas para um modelo com cálcio sérico não foi encontrada nenhuma diferença significativa. Estes dados encontram-se na figura 3.

### **INSERIR FIGURA 3**

## **DISCUSSÃO**

Com o maior envelhecimento populacional, diversas condições e doenças associadas têm despertando o interesse por representarem maior risco de morbidade e mortalidade. Dentro deste grupo que merecem as condições que podem modificar a massa óssea, como a osteoporose<sup>(14)</sup>, implicando em elevados custos relacionados ao tratamento e manejo das complicações geradas pelas fraturas ósseas<sup>(8)</sup>.

Apesar de alterações de massa óssea terem uma relação maior, além do idoso, também com o sexo feminino, a redução da densidade óssea é multifatorial, incluindo fatores genéticos, hábitos de vida, uso de fármacos e doenças associadas, que podem afetar qualquer indivíduo, independente do sexo, grupos específicos merecem destaque, como os indivíduos com traumatismo raquimedular<sup>(8, 28)</sup>. Esta condição está associada a uma perda mais acelerada de massa óssea, principalmente pelas mudanças geradas pela imobilidade e redução na atividade de impacto, o que pode influenciar, além da densidade óssea, os marcadores bioquímicos.

Neste contexto, alterações nos níveis do paratormônio, cálcio e vitamina D podem ocorrer, influenciando neste processo de perda óssea. Dentro desta linha relacionada à baixa ou nenhuma atividade física ou, até mesmo, imobilidade, que são pertinentes aos indivíduos



com lesão medular, e somado ao avanço da idade e outras condições de saúde concomitantes, fazem com que os indivíduos com lesão medular, independentemente da idade, sejam um grupo propenso à perda da densidade mineral óssea.

A literatura demonstra que uma grande parte dos indivíduos que sofre lesão medular são adultos jovens, fato confirmado em nosso estudo, onde a idade média dos indivíduos avaliados foi de 35 anos. Nogueira et al<sup>(23)</sup>, em estudo realizado em São Paulo com 59 sujeitos, mostraram que os participantes tinham uma média etária de 37 anos, o que caracteriza um grupo muito jovem e propenso à maior risco futuro de apresentar redução na densidade óssea e risco de fraturas aumentado. Opperman et al<sup>(26)</sup> também mostraram em outros estudos publicados, uma média etária semelhante em indivíduos com lesão medular em relação à idade encontrada em nosso estudo<sup>(22, 6)</sup>.

Juntamente com alterações da massa óssea, outro fator relevante encontrado em nosso estudo, é a baixa concentração de vitamina D nesses indivíduos. Conforme dados atuais publicados, existe uma pandemia de hipovitaminose D, fato que ocorre tanto em homens como em mulheres, sejam eles ativos fisicamente ou não, sendo a causa deste achado multifatorial. A média de vitamina D encontrada em nosso estudo foi de 19,04 ng/mL o que, segundo *guideline* publicado recentemente por Hollick et al<sup>(12)</sup>, são valores classificados como deficientes, acompanhando a tendência encontrada em diferentes populações, inclusive, no Brasil, mais especificamente em São Paulo, onde cerca de 40% da população socialmente ativa e sem lesão medular, apresenta valores abaixo da recomendação.<sup>(31)</sup> Esse achado vai de encontro aos publicados por Bauman<sup>(2, 3)</sup> em sujeitos com lesão medular, onde os autores verificaram uma concentração média de vitamina D de 14 ng/mL no grupo avaliado.

Fato que merece destaque e, de certo modo já esperado, foi em relação ao tempo de lesão, que atuou de forma negativa sobre as concentrações de vitamina D nos indivíduos participantes. Este achado pode estar diretamente relacionado aos hábitos de vida adquiridos pelos participantes do estudo após a lesão, pois o traumatismo raquimedular é uma condição complexa que traz alterações biopsicossociais, refletindo neste marcador<sup>(23)</sup>.

Como já é conhecido, a síntese e metabolização da vitamina D depende, em sua grande maioria, da exposição aos raios solares UV B, que irão dar início a todo o processo de ativação da 25-OH-vitamina D em 1,25 (OH)<sub>2</sub> vitamina D, também conhecida como calcitriol, através de seu substrato 7-deidrocolesterol, na epiderme.<sup>(12, 9, 11)</sup> Embora o eixo vitamina D-cálcio-PTH sofra reflexos com a ocorrência da lesão medular fazendo com que, decorrente da imobilização, haja um processo de desmineralização óssea mais acelerado, com aumento da

calcemia e, conseqüentemente, suprimindo a secreção de paratormônio e vitamina D<sup>(29)</sup>, a privação solar parece explicar melhor a diminuição dos níveis de vitamina D e influenciado pelo tempo de lesão.<sup>(29)</sup> Adicionalmente deve ser levado em consideração que alguns fármacos utilizados por estes indivíduos, como os anticonvulsivantes, podem acelerar a hidroxilação da vitamina D, podendo contribuir para a baixa quantificação desse elemento no organismo.<sup>(3)</sup>

Quando comparamos, no nosso estudo, os níveis séricos do paratormônio e o tempo de lesão, observamos uma relação positiva, ou seja, quanto maior o tempo de lesão ocorrido, maiores são os níveis de PTH encontrados. Como abordado anteriormente, após a lesão no período mais agudo ocorre uma supressão do eixo PTH-Vitamina D, contudo, passada esta fase dá início uma fase de aumento nos níveis séricos de paratormônio como mecanismo para manutenção da calcemia. Em comparação aos dados médios de paratormônio basal obtidos por Bauman (em torno de 70,0 pg/mL)<sup>(2)</sup>, foram encontrados por nós valores mais baixos (em torno de 34,81 pg/mL). Ainda em comparação a outro estudo realizado por Bauman et al<sup>(4)</sup>, os valores médios de PTH encontrados em nossa amostra foram semelhantes aos encontrados por estes autores, que foram em torno de 38,0 pg/mL, embora o tempo médio de lesão dos participantes do nosso estudo foi de aproximadamente 6,09 anos, menor em relação ao encontrado por Bauman et al, que foi de 20 anos. Da mesma forma que no estudo de Mechanick et al<sup>(19)</sup>, foi encontrado por nós uma média menor de PTH nos indivíduos com lesão completa quando comparados aos com lesão incompleta, porém este achado não mostrou significância.

Embora o hiperparatireoidismo seja uma complicação mais comum de indivíduos com comprometimento da função renal submetidos à hemodiálise<sup>(21)</sup>, a relação entre vitamina D, cálcio total e PTH deve ser acompanhada com atenção, já que o hiperparatireoidismo secundário pode estar presente nesses indivíduos com imobilidade prolongada somada à deficiência de vitamina D<sup>(3)</sup>. Além de atuar de forma adversa no tecido ósseo, a hipovitaminose D pode agir de forma negativa em outros aspectos como na osteomalácia, patologia que envolve diretamente o tecido ósseo, levando à fraqueza muscular e outras complicações relacionadas à deficiência de vitamina D<sup>(27)</sup>.

Em nosso estudo, os parâmetros albumina, creatinina e uréia foram utilizadas como elementos que auxiliaram a avaliação da função renal, onde variações nas concentrações de cálcio total são associadas a estes parâmetros bioquímicos, já que este analito é ligado à albumina nessa forma. Conforme encontrado no estudo de Bauman et al<sup>(4)</sup>, também não

identificamos anomalias nas concentrações de albumina na amostra avaliada. Também vale ressaltar que o cálcio ionizado é o que melhor demonstra o *status* calcêmico<sup>(15, 25)</sup>, porém optamos por utilizar a dosagem de cálcio total por este apresentar uma maior estabilidade e ser amplamente utilizado na prática clínica, além de fornecer informação de qualidade sobre a concentração desse elemento no organismo<sup>(15)</sup>.

Outro fator interessante a respeito do nosso estudo foi o método utilizado para dosagem da vitamina D. A técnica de dosagem da 25-hidroxivitamina D por HPLC-DAD, baseada no estudo de Kich et al<sup>(16)</sup>, mostrou-se precisa e exata com sensibilidade adequada para a quantificação da vitamina D. Existem inúmeros métodos comerciais de dosagem da vitamina D citados na literatura, mais especificamente a 25-hidroxivitamina D<sup>(17, 30)</sup>, apresentando prós e contras. Contudo, estudos têm demonstrado uma variabilidade elevada<sup>(30)</sup> entre essas técnicas, podendo dar origem a interpretações equivocadas quanto à quantificação da vitamina D. Embora existam publicações com opiniões divergentes quanto ao método mais adequado, na maior parte, são citados a cromatografia líquida de alta eficiência como sendo um dos melhores métodos, por apresentar uma elevada acurácia<sup>(30)</sup>, já que que outros métodos citados, como ensaios competitivos de proteína ligante, superestimam os valores desse analito<sup>(18)</sup>.

## CONCLUSÃO

Através desse estudo observamos que indivíduos com lesão medular por traumatismo, oriundos de Porto Alegre, apresentam hipovitaminose D, tanto quanto sujeitos sem a presença desta condição. A variável tempo de lesão é um fator de agravo quanto aos níveis de vitamina D e, levando em consideração mudanças no mecanismo fisiológico desses indivíduos, pode-se elevá-los a um grupo de risco bastante importante.

Fato a ser considerado, e de aplicação relativamente fácil, se refere à exposição solar, por não apresentar custo e por mostrar resultados contundentes quanto ao aumento dos níveis de vitamina D nesses indivíduos, podendo ser uma ferramenta interessante para a manutenção da saúde desses indivíduos e melhora da qualidade de vida.

## REFERÊNCIAS

1. ACKERY, A.; TATOR, C.; KRASSIOUKOV, A. A global perspective on spinal cord injury epidemiology. *J Neurotrauma.*, v. 21, n. 10, p.1355-70, Oct. 2004.
2. BAUMAN, W. A. et al Acute suppression of bone turnover with calcium infusion in persons with spinal cord injury. *J Spinal Cord Med.*, v. 32, n. 4, p. 398-403, 2009.
3. BAUMAN, W. A. An effective oral vitamin D replacement therapy in persons with spinal cord injury. *J Spinal Cord Med.*, v. 34, n. 5, p.455-60, 2011.
4. BAUMAN, W. A.; ZHONG, Y. G.; SCHWARTZ, E. Vitamin D deficiency in veterans with chronic spinal cord injury. *Metabolism.*, v. 44, n. 12, p. 1612-6, Dec. 1995.
5. BISCHOFF-FERRARI, H. A. et al. Vitamin D receptor expression in human muscle tissue decreases with age. *J Bone Miner Res.*, v. 19, n. 2, p. 265-9, Feb. 2004.
6. COURA, A. S. et al. Functional disability of adult individuals with spinal cord injury and its association with socio-demographic characteristics. *Rev Lat Am Enfermagem*, v. 20, n. 1, p. 84-92, Jan-Feb. 2012.
7. da PAZ, A. C. et al. Traumatic injury to the spinal cord. prevalence in Brazilian hospitals. *Paraplegia*, v. 30, n. 9, p.636-40, Sep. 1992.
8. DOURADOR, E. B. Osteoporose senil. *Arq Bras Endocrinol Metabol.*, v. 43, p. 446-51, 1999.
9. HOLICK, M. F. High Prevalence of Vitamin D Inadequacy and Implications for Health. *Mayo Clinic Proceedings.*, v. 81, n. 3, p. 353-73, Mar. 2006.
10. HOLICK, M. F. Vitamin D: a D-Lightful health perspective. *Nutr Rev.*, v. 66, n. 10 (Suppl): p. S182-S94, Oct. 2008.
11. HOLICK, M. F. Vitamin D: the other steroid hormone for muscle function and strength. *Menopause*, v. 16, n. 6, p. 1077-8, Nov-Dec. 2009.
12. HOLICK, M. F. et al. Evaluation, Treatment, and Prevention of Vitamin D Deficiency: an Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J Clin Endocrinol Metab.*, v. 96, n. 7, p. 1911-30, Jul. 2011.
13. JACKSON, A. B. et al. A demographic profile of new traumatic spinal cord injuries: change and stability over 30 years. *Arch Phys Med Rehabil.*, v. 85, n. 11, p. 1740-8, Nov. 2004.
14. JEON, Y. K. et al. Association between bone mineral density and metabolic syndrome in pre- and postmenopausal women. *Endocr J.*, v. 58, n. 2, p. 87-93, 2011.

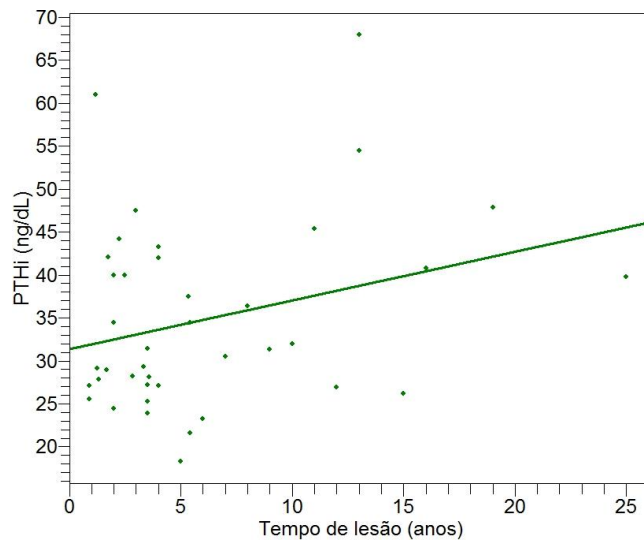
15. KHAN, A. H.; JAFRI, L. Ionized calcium cannot predict vitamin d deficiency. *Indian J Clin Biochem.*, v. 26, n. 4, p. 428-9, Oct. 2011.
16. KICH, D. M. et al. Determinação de 25-hidroxivitamina D2 e D3 em plasma por CLAE-DAD. *J Bras Patol Med Lab.*, v. 48, n. 5, p. 329-36, out. 2012.
17. LAI, J. K. C. et al. Assessing vitamin D status: Pitfalls for the unwary. *Mol Nutr Food Res.*, v. 54, n. 8, p. 1062-71, 2010.
18. LENSMEYER, G. L. et al. HPLC method for 25-hydroxyvitamin D measurement: comparison with contemporary assays. *Clin Chem.*, v. 52, n. 6, p. 1120-6, Jun. 2006
19. MECHANICK, J. I. et al. Parathyroid hormone suppression in spinal cord injury patients is associated with the degree of neurologic impairment and not the level of injury. *Arch Phys Med Rehabil.*, v. 78, n. 7, p. 692-6, Jul. 1997.
20. MIYAHARA, K et al. Effect of sports activity on bone mineral density in wheelchair athletes. *J Bone Miner Metab.*, v. 26, n. 1, p. 101-6, 2008.
21. MOLINARI, A. et al. Prevalência o hiperparatireoidismo secundário à IRC em Porto Alegre. *Rev AMRIGS*, v. 39, n. 1, p. 53-9, 1995.
22. NOGUEIRA, P. C.; CALIRI, M. H.; HAAS, V. J. Profile of patients with spinal cord injuries and occurrence of pressure ulcer at a university hospital. *Rev Lat Am Enfermagem*, v. 14, n. 3, p.372-7, May-Jun. 2006.
23. NOGUEIRA, P. C. et al. Burden of care and its impact on health-related quality of life of caregivers of individuals with spinal cord injury. *Rev Lat Am Enfermagem*, v. 20, n. 6, p. 1048-56, Dec. 2012.
24. OLESON, C. V.; PATEL, P. H.; WUERMSER, L. A. Influence of season, ethnicity, and chronicity on vitamin D deficiency in traumatic spinal cord injury. *J Spinal Cord Med.*, v. 33, n. 3, p. 202-13, 2010.
25. ONG, G. S. et al. The importance of measuring ionized calcium in characterizing calcium status and diagnosing primary hyperparathyroidism. *J Clin Endocrinol Metab.*, v. 97, n. 9, p. 3138-45, Sep. 2012.
26. OPPERMAN, E. A. et al. Dietary supplement use in the spinal cord injury population. *Spinal Cord.*, v. 48, n. 1, p. 60-4, Jan. 2009.
27. PEARCE, S. H.; CHEETHAM, T. D. Diagnosis and management of vitamin D deficiency. *BMJ.*, v. 340, p. 142-7, Jan. 2010.
28. PIGNOTTI, G. et al. Is a lower dose of vitamin D supplementation enough to increase 25(OH)D status in a sunny country? *Eur J Nutr.*, v. 49, n. 5, p. 277-83, 2009.
29. QIN, W.; BAUMAN, W. A.; CARDOZO, C. Bone and muscle loss after spinal cord injury: organ interactions. *Ann N Y Acad Sci.*, n. 1211, p. 66-84, Nov. 2010.

30. SNELLMAN, G. et al. Determining vitamin D Status: a comparison between commercially available assays. *PLoS ONE*, v. 5, n. 7, p.e 11555, Jul. 2010.

31. UNGER, M. et al. Vitamin D status in a sunny country: where has the sun gone? *Clin Nutr.*, v. 29, n. 6, p. 784-8, 2010.

**Figura 1.** Caracterização geral da amostra

Variável	Total 40 (100%)	Paraplégicos 31 (78%)	Tetraplégicos 9 (22%)
Idade (anos)	35,52 ± 9,78	34,41 ± 9,82	39,33 ± 9,15
Peso (Kg)	74,71 ± 15,92	73,53 ± 13,85	78,78 ± 22,16
Fármaco (unidades)	2,55 ± 2,19	2,35 ± 1,88	3,22 ± 3,07
Cálcio (mg/dL)	9,54 ± 0,52	9,53 ± 0,51	9,60 ± 0,57
Vitamina D (ng/mL)	19,04 ± 6,98	20,13 ± 7,18	15,27 ± 4,92
PTH (pg/mL)	34,81 ± 10,84	33,43 ± 8,61	39,59 ± 16,19
Tempo de lesão (anos)	6,09 ± 5,55	6,07 ± 5,87	6,17 ± 4,55

**Figura 2.** Valores de PTH e tempo de lesão medular $p=0,070$

**Figura 3.** Relação dos níveis de vitamina D, paratormônio e cálcio total dividido por grupo de lesão medular completa e lesão medular incompleta.

<b>Variável</b>	<b>Lesão Completa n=24 média ± dp</b>	<b>Lesão Incompleta n=16 média ± dp</b>	<b>p</b>
<b>Vitamina D (ng/mL)</b>	20,0 ± 6,54	17,5 ± 7,58	0,276
<b>PTHi (pg/mL)</b>	34,37 ± 10,39	35,47 ± 11,80	0,756
<b>Cálcio total (mg/dL)</b>	9,47 ± 0,50	9,65 ± 0,54	0,316

dp= desvio-padrão



**ANEXO F – COMPROVANTE DE SUBMISSÃO**

Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial

Rua Dois de Dezembro, 78/909 Catete  
Rio de Janeiro RJ Brasil  
CE P 22220-040

Rio de Janeiro, sexta-feira, 15 de fevereiro de 2013

Ilmo(a) Sr.(a)  
Prof(a), Dr(a) Mauricio Sprenger Bassuino

Referente ao código de fluxo: 1044  
Classificação: Artigo Original

Informamos que recebemos o manuscrito Determinação de 25-hidr oxivitamina D por HPLC e paratormônio em um grupo de indivíduos com lesão medular será enviado para apreciação dos revisores para possível publicação/participação na(o) Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial. Por favor, para qualquer comunicação futura sobre o referido manuscrito cite o número de referência apresentado acima.

**O (s) autor (es) declara(m) que o presente trabalho é original, sendo que o seu conteúdo não foi nem está sendo considerado para publicação em outro periódico, brasileiro ou do Exterior, seja no formato impresso ou eletrônico.**

Obrigado por submeter seu trabalho a(o) Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial.

Atenciosamente,

Adagmar Andriolo  
Editor

SILVANA MARIA ELOI SANTOS - Patologia Clínica (Medicina Laboratorial)  
Editor