



## Artigo Original

# Efeitos da administração em longo prazo do omeprazol sobre a densidade mineral óssea e as propriedades mecânicas do osso<sup>☆</sup>



Gabriela Rezende Yanagihara<sup>a,\*</sup>, Aline Goulart de Paiva<sup>a</sup>, Maurílio Pacheco Neto<sup>a,b</sup>, Larissa Helena Torres<sup>c</sup>, Antônio Carlos Shimano<sup>d</sup>, Mário Jefferson Quirino Louzada<sup>e</sup>, Raquel Annoni<sup>a</sup> e Álvaro César de Oliveira Penoni<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Faculdade de Ciências Médicas de Pouso Alegre, Universidade do Vale do Sapucaí, Pouso Alegre, MG, Brasil

<sup>b</sup> Departamento de Patologia Clínica, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil

<sup>c</sup> Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil

<sup>d</sup> Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, São Paulo, SP, Brasil

<sup>e</sup> Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista Júlio Mesquita Filho, Araçatuba, São Paulo, SP, Brasil

## INFORMAÇÕES SOBRE O ARTIGO

Histórico do artigo:

Recebido em 6 de abril de 2014

Aceito em 19 de maio de 2014

On-line em 22 de setembro de 2014

Palavras-chave:

Osso

Densidade óssea

Omeprazol

Ratos

## R E S U M O

**Objetivos:** Estudos epidemiológicos mostram uma relação entre o uso em longo prazo de inibidores de bomba de prótons e o metabolismo ósseo, porém essa relação ainda não está estabelecida. O objetivo deste estudo foi analisar as propriedades mecânicas e a densidade mineral óssea (DMO) de ratos submetidos ao uso de omeprazol em longo prazo.

**Métodos:** Cinquenta ratos Wistar, entre 200 e 240 g, foram divididos igualmente em cinco grupos: OMP300 (ingestão de omeprazol na dose de 300 µmol/Kg/dia), OMP200 (200 µmol/Kg/dia), OMP40 (40 µmol/Kg/dia), OMP10 (10 µmol/Kg/dia) e Cont (grupo controle; ingestão do veículo de diluição). A administração das soluções ocorreu durante 90 dias seguidos. Após a eutanásia, foram analisadas a DMO, as propriedades mecânicas dos fêmures dissecados e a dosagem de Ca<sup>++</sup> sérico.

**Resultados:** A DMO do grupo OMP300 foi menor do que a do Cont (p=0,006). Não houve diferença na comparação entre os grupos OMP200, OMP40 e OMP10 em relação ao Cont. A força máxima e rigidez do fêmur não foram diferentes nos grupos experimentais quando comparados ao Cont. O grupo OMP300 teve concentrações séricas de Ca<sup>++</sup> estatisticamente menores do que o grupo Cont (p=0,049) sem diferença entre os demais grupos em relação ao Cont.

**Conclusão:** A ingestão diária de 300 µmol/Kg/dia de omeprazol diminuiu a DMO do fêmur, porém sem alterações na rigidez e na força do fêmur de ratos adultos.

© 2014 Sociedade Brasileira de Ortopedia e Traumatologia. Publicado por Elsevier Editora Ltda. Todos os direitos reservados.

<sup>☆</sup> Trabalho desenvolvido na Faculdade de Ciências Médicas de Pouso Alegre, Universidade do Vale do Sapucaí, Pouso Alegre, MG, Brasil.

\* Autor para correspondência.

E-mail: [gabrielayanagihara@hotmail.com](mailto:gabrielayanagihara@hotmail.com) (G.R. Yanagihara).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.rbo.2014.05.012>

0102-3616/© 2014 Sociedade Brasileira de Ortopedia e Traumatologia. Publicado por Elsevier Editora Ltda. Todos os direitos reservados.

## Effects of long-term administration of omeprazole on bone mineral density and the mechanical properties of the bone

### A B S T R A C T

#### Keywords:

Bone  
Bone density  
Omeprazole  
Rats

**Objectives:** Epidemiological studies have shown a relationship between long-term use of proton pump inhibitors and bone metabolism. However, this relationship has not yet become established. The aim of the present study was to analyze the mechanical properties and bone mineral density (BMD) of rats that were subjected to long-term omeprazole use.

**Methods:** Fifty wistar rats weighing between 200 and 240 g were divided equally into five groups: OMP300 (omeprazole intake at a dose of 300  $\mu\text{mol/kg/day}$ ); OMP200 (200  $\mu\text{mol/kg/day}$ ); OMP40 (40  $\mu\text{mol/kg/day}$ ); OMP10 (10  $\mu\text{mol/kg/day}$ ); and Cont (control group; intake of dilution vehicle). The solutions were administered for 90 consecutive days. After the rats had been sacrificed, their BMD, the mechanical properties of the dissected femurs and their serum  $\text{Ca}^{++}$  levels were analyzed.

**Results:** The BMD of the OMP300 group was lower than that of the controls ( $p=0.006$ ). There was no difference in comparing the OMP200, OMP40 and OMP10 groups with the controls. The maximum strength and rigidity of the femur did not differ in the experimental groups in comparison with the controls. The OMP300 group had a statistically lower serum  $\text{Ca}^{++}$  concentration than that of the controls ( $p=0.049$ ), but the other groups did not show any difference in relation to the controls.

**Conclusion:** Daily intake of 300  $\mu\text{mol/kg/day}$  of omeprazole decreased the BMD of the femur, but without changes to the rigidity and strength of the femur in adult rats.

© 2014 Sociedade Brasileira de Ortopedia e Traumatologia. Published by Elsevier Editora Ltda. All rights reserved.

## Introdução

Os inibidores da bomba de prótons (PPIs) são os principais fármacos usados para tratar doenças como úlcera duodenal e esofagite de refluxo.<sup>1,2</sup> Por apor apresentarem poucos efeitos adversos quando administrados corretamente, esses medicamentos passaram a não ser usados somente para sintomas agudos na prática clínica, ainda que sua indicação em longo prazo seja bastante discutível.<sup>3-5</sup>

Os PPIs atuam principalmente na supressão da secreção de ácido gástrico pelas células parietais do estômago, pois inibem a enzima  $\text{H}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ , e essa supressão ácida pode durar até 48 horas.<sup>6</sup>

Estudos epidemiológicos indicam que há uma relação entre o uso prolongado de PPIs e o metabolismo ósseo,<sup>7-9</sup> porém essa relação ainda não está totalmente estabelecida. Yang et al.<sup>4</sup> descreveram que a administração de omeprazol (20 mg/dia), um dos principais PPIs, é capaz de diminuir significativamente a densidade mineral óssea (DMO). Acredita-se que o mecanismo responsável seja a elevação do pH gástrico que interferiria na absorção do cálcio.<sup>4,10,11</sup> Isso acontece porque alguns sais, como o cálcio, são insolúveis em pH básico e, portanto, seriam menos absorvidos.<sup>8</sup> Entretanto, o estudo de Hyun et al.<sup>3</sup> sugere que o uso de omeprazol tende a diminuir a reabsorção óssea e impedir a progressão para a osteoporose. Portanto, não está claro a relação do uso de PPIs com a desmineralização óssea e o risco de fraturas associadas ao uso prolongado de omeprazol.<sup>9</sup>

Uma vez que existem evidências de que o uso prolongado de PPIs pode alterar o comportamento das células ósseas,

nosso objetivo foi analisar a densidade mineral óssea e as propriedades mecânicas do fêmur de ratos submetidos ao uso de omeprazol em longo prazo.

## Materiais e métodos

### Tipo de estudo

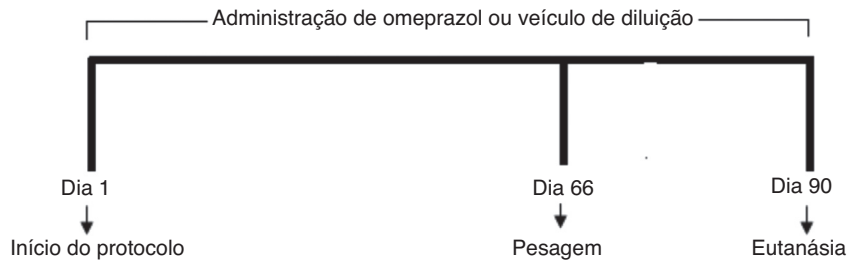
Experimental em modelo animal.

### Animais

Os procedimentos adotados neste estudo seguiram as normas descritas pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (Cobea) de 1991 e do International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals<sup>12</sup> e teve aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa Animal da Universidade do Vale do Sapucaí.

Cinquenta ratos da linhagem Wistar, machos, adultos, de peso entre 200-240 g, foram usados neste estudo. Os animais foram mantidos sob condições normais de ambiente e temperatura ( $21^\circ \pm 2^\circ\text{C}$ ; 55%-60% de umidade e ciclo de 12 horas claro/escuro). Receberam água *ad libitum* e ração para ratos. Foi feito jejum de seis horas no período diurno, imediatamente antes do início do protocolo diário.

Os ratos foram divididos igualmente em cinco grupos: 1) OMP300 – ingestão de omeprazol na dose de 300  $\mu\text{mol/Kg}$ ; 2) OMP200 – 200  $\mu\text{mol/Kg}$ ; 3) OMP40 – 40  $\mu\text{mol/Kg}$ ; 4) OMP10 – 10  $\mu\text{mol/Kg}$ ; e 5) controle (Cont) – ingestão apenas do veículo de diluição.



**Figura 1 – Desenho experimental durante o período de exposição.**

### Soluções

Todos os experimentos foram feitos com água grau I purificada em sistema Milli-Q e com reagentes de grau analítico. As soluções do medicamento foram preparadas de acordo com Larsson et al.<sup>13</sup> Os grânulos de omeprazol (8,5%; Pharma Nostra, Lavras, Minas Gerais, Brasil) foram triturados com auxílio de almofariz e dispersos em veículo contendo 0,25% de hidroxietilcelulose 4400 (Galena Química, Lavras, Minas Gerais, Brasil) em solução 0,1M de bicarbonato de sódio,  $\text{pH} \approx 7,4$ . As suspensões foram preparadas nas concentrações de 10, 40, 200, 300  $\mu\text{mol/L/kg}$ .

### Protocolo experimental

Durante 90 dias os animais dos grupos experimentais receberam suas respectivas doses de omeprazol e os animais do grupo controle receberam o veículo de diluição. A administração via oral foi feita por meio de gavagem. A figura 1 mostra o desenho experimental ao longo dos 90 dias de experimento.

Ao término dos 90 dias de ingestão dos compostos, os animais foram novamente pesados, anestesiados com injeção intramuscular de cloridrato de xilazina (95 mg/kg) e cloridrato de ketamina (12 mg/kg) e sacrificados por exsanguinação, por meio de punção cardíaca.<sup>14,15</sup> Os fêmures direito e esquerdo de cada animal foram extraídos de seus segmentos corporais e os tecidos musculares e conjuntivos foram totalmente removidos. Os animais e espécimes foram pesados simultaneamente. Após pesagem e medição, as estruturas foram mantidas em solução salina resfriada até o dia da análise densitométrica e dos ensaios mecânicos (até 48 horas após dissecação).

### Análise densitométrica

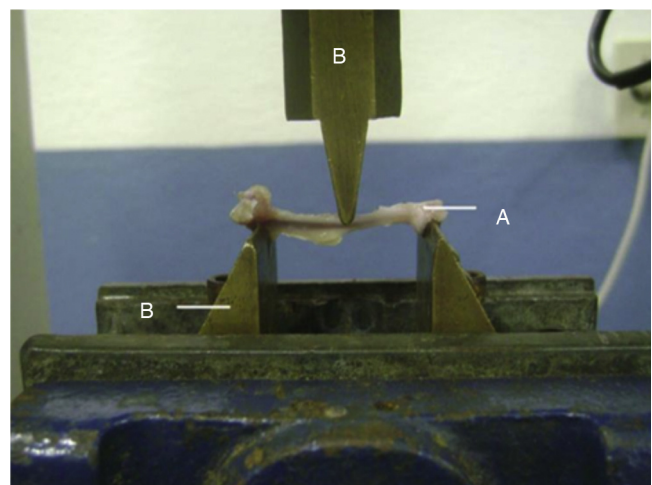
Os fêmures direitos foram submetidos à análise em um densitômetro de dupla emissão de raios X para pequenos animais, modelo DPX-Alpha, Lunar®. As aquisições de imagem foram feitas com os fêmures na mesma posição, imersos sob profundidade de 2 cm de água e selecionadas as opções: apendicular; osso Tipo I; modo alta resolução; 76 kVp; 150  $\mu\text{A}$ ; colimação no ajuste fino; área de tamanhos padronizados em 40 mm de largura e 20 mm de comprimento. Conforme a recomendação do fabricante, o aparelho foi calibrado com um fantoma fornecido pelo próprio fabricante.

Com auxílio do mesmo programa computacional usado na aquisição das imagens foram feitas as análises dos exames. Com o uso da ferramenta de seleção, os ossos foram demarcados em sua totalidade e as informações sobre conteúdo de massa óssea, área do osso e, conseqüentemente, densidade mineral óssea foram coletadas.

### Análise mecânica

Os fêmures esquerdos dos animais foram analisados mecanicamente por meio do ensaio mecânico de flexão em três pontos (fig. 2). Para a realização desse ensaio mecânico, usou-se uma máquina universal de ensaios (EMIC®, modelo DL 10000), uma célula de carga com capacidade de 500N (certificada pela EMIC®), pertencentes ao laboratório de Bioengenharia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/Universidade de São Paulo, e acessórios desenvolvidos especialmente para os ensaios de flexão em três pontos para ossos de animais de pequeno porte.<sup>16-18</sup>

As propriedades mecânicas analisadas no ensaio de flexão em três pontos foram a força máxima ( $F_{\text{max}}$ ) e a rigidez (Rig). A velocidade de aplicação de força para os ensaios de flexão em três pontos foi de 1 mm/min. O vão entre os pontos de ensaio foi de 30 mm e foi adotado um tempo de acomodação de 30 segundos.



**Figura 2 – Ensaio mecânico de flexão em três pontos. A, estrutura óssea; B, aparato de força aplicada. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP.**

**Tabela 1 – Pesos inicial, médio e final dos animais, força máxima (Fmax) e rigidez (Rig)**

Grupo	Peso inicial (g)	Peso médio (g)	Peso final (g)	Fmax (N)	Rig (N/mm)
OMP300	196,88 ± 14,90	357,55 ± 39,61	379,44 ± 43,94	92,35 ± 11,61	154,92 ± 33,52
OMP200	213,80 ± 36,06	365,90 ± 44,71	391,70 ± 49,79	97,19 ± 12,09	152,34 ± 26,73
OMP40	223,40 ± 39,90	355,10 ± 57,83	382,10 ± 59,283	91,22 ± 14,93	130,30 ± 18,50
OMP10	221,90 ± 40,39	378,80 ± 35,04	413,60 ± 33,59	97,01 ± 15,93	149,52 ± 34,91
CONT	215,70 ± 39,20	362,30 ± 22,63	383,50 ± 35,83	99,76 ± 6,10	155,23 ± 37,24

OMP 300 (omeprazol 300 µmol/Kg), OMP 200 (omeprazol 200 µmol/Kg), OMP 40 (omeprazol 200 µmol/Kg), OMP 10 (omeprazol 200 µmol/Kg), Cont (Controle). Resultados apresentados em média ± DP.

### Dosagem de Ca<sup>++</sup> sérico

O sangue coletado pela punção cardíaca foi usado para dosagem sérica de cálcio por meio de conjunto de diagnóstico da empresa Doles (Goiânia, Brasil).

Após centrifugação (1.000 g, 5 min) do sangue coletado pela punção cardíaca, o soro foi coletado e as dosagens do cálcio sérico foram feitas com o uso do conjunto diagnóstico da empresa Doles (Goiânia, Brasil). O método baseia-se na formação de um complexo colorido entre o cálcio e a cresolftaleína em meio alcalino. Para as análises usou-se espectrofotômetro Femto 650® (Femto Ind. e Com. de Instrumentos Ltda., São Paulo, Brasil) ajustado em comprimento de onda de 570 nm.

### Análise estatística

A análise estatística dos dados foi feita com o programa SPSS (SPSS. Chicago/EUA versão 15.0). Para testar a normalidade da amostra, usou-se o teste de Kolmogorov-Smirnov. Uma vez que a distribuição dos dados mostrou-se normal, a comparação dos parâmetros entre o grupo controle e os demais grupos experimentais foi feita por meio do teste t-Student. Para a comparação dos pesos dos animais durante o experimento e do peso dos fêmures foi usado o teste one-way Anova. Adotou-se nível de significância de 5% ( $p \leq 0,05$ ) e os resultados foram expressos como média ± desvio padrão.

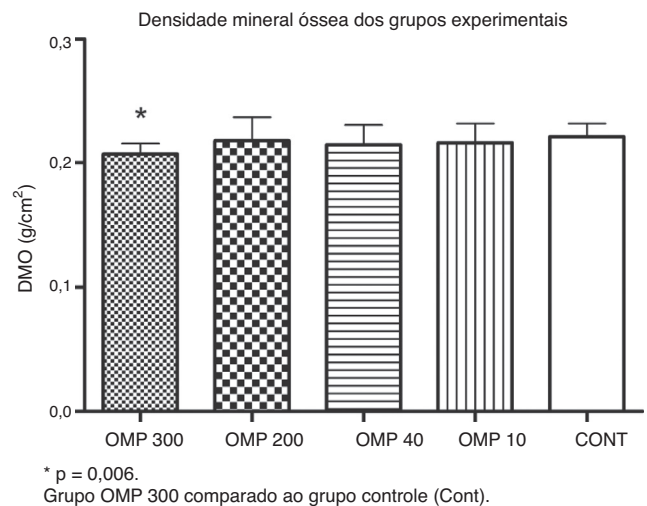
### Resultados

Durante o experimento houve perda de um animal que compunha o grupo OMP300.

O peso médio dos animais não foi diferente entre os grupos no dia 1 ( $p=0,52$ ), dia 66 ( $p=0,74$ ) e dia 90 ( $p=0,45$ ) do experimento (tabela 1).

A densidade óssea do grupo OMP300 ( $0,20 \pm 0,008$  g/cm<sup>2</sup>) foi menor do que a do grupo Cont ( $0,22 \pm 0,107$  g/cm<sup>2</sup>;  $p=0,006$ ). Não houve diferença na comparação entre os grupos OMP200 ( $0,21 \pm 0,019$  g/cm<sup>2</sup>;  $p=0,644$ ), OMP40 ( $0,21 \pm 0,015$  g/cm<sup>2</sup>;  $p=0,305$ ) e OMP10 ( $0,21 \pm 0,016$  g/cm<sup>2</sup>;  $p=0,410$ ), quando comparados ao grupo controle (fig. 3).

Não houve diferença para os resultados de força máxima dos fêmures, na comparação do grupo Cont e os demais grupos OMP300 ( $p=0,09$ ); OMP200 ( $p=0,55$ ); OMP40 ( $p=0,11$ ) e OMP10 ( $p=0,62$ ). Da mesma forma, não houve diferença para os valores de rigidez na comparação do grupo Cont com os demais grupos, OMP300 ( $p=0,98$ ); OMP200 ( $p=0,84$ ); OMP40 ( $p=0,08$ ) e



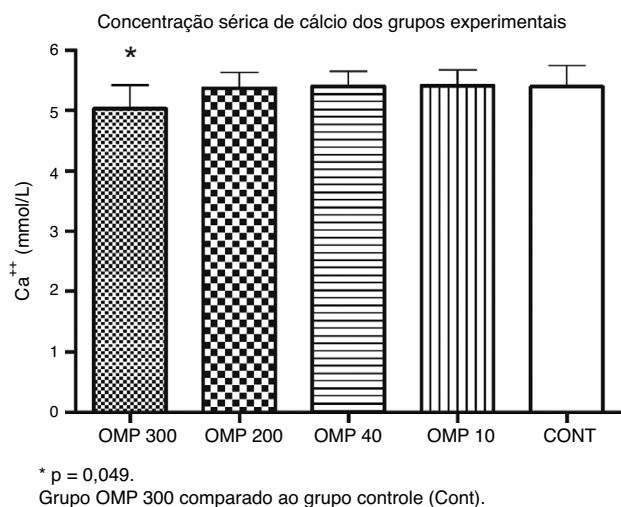
**Figura 3 – Gráfico dos resultados da densitometria mineral óssea de cada grupo experimental. Valores expressos em média ± desvio padrão. OMP 300 (omeprazol 300 µmol/Kg), OMP 200 (omeprazol 200 µmol/Kg), OMP 40 (omeprazol 200 µmol/Kg), OMP 10 (omeprazol 200 µmol/Kg), Cont (controle); DMO, densidade mineral óssea.**

OMP10 ( $p=0,72$ ). Os valores de força e rigidez estão expostos na tabela 1.

A concentração sérica de Ca<sup>++</sup> no grupo OMP300 ( $5,03 \pm 0,39$  mmol/L) foi menor em relação ao grupo Cont ( $5,39 \pm 0,35$  mmol/L;  $p=0,049$ ). Não houve diferença na comparação entre os grupos OMP200 ( $5,37 \pm 0,26$  mmol/L;  $p=0,860$ ) OMP40 ( $5,40 \pm 0,25$  mmol/L;  $p=0,970$ ) e OMP10 ( $5,41 \pm 0,26$  mmol/L;  $p=0,910$ ), quando comparados ao grupo controle (fig. 4).

### Discussão

No presente trabalho foram avaliadas as características ósseas de ratos que receberam ingestão diária de omeprazol durante 90 dias consecutivos em quatro diferentes doses (300, 200, 40 e 10 µmol/Kg/dia). Os resultados desse estudo demonstram a influência da dosagem desse medicamento na densidade mineral óssea, uma vez que o grupo que recebeu a maior dose (OMP 300) apresentou menor mineralização óssea quando comparado ao grupo controle (Cont), resultado que pode ser associado à diminuição da concentração de Ca<sup>++</sup> sérica nesse grupo. Contudo, não foi observada influência do uso de omeprazol nas propriedades mecânicas do tecido ósseo.



**Figura 4 – Concentração sérica de cálcio (Ca<sup>++</sup>). Valores expressos em média ± desvio padrão. OMP 300 (omeprazol 300 µmol/Kg), OMP 200 (omeprazol 200 µmol/Kg), OMP 40 (omeprazol 200 µmol/Kg), OMP 10 (omeprazol 200 µmol/Kg), Cont, controle.**

As fraturas osteoporóticas são consideradas um problema de saúde pública mundial. A taxa de mortalidade durante o primeiro ano após fratura de quadril é de cerca de 30%.<sup>19</sup> A cada ano é estimado que 1,5 milhão de pessoas nos EUA são acometidas por fraturas relacionadas à osteoporose, um evento que pode reduzir a qualidade de vida e aumentar o risco de morte.<sup>5</sup> Entretanto, a relação dos riscos de fratura de quadril com uso prolongado de PPIs ainda não está bem esclarecida.

Em um estudo feito em 1993, Mizunashi et al.<sup>20</sup> avaliaram o efeito da terapia de PPI nos níveis séricos de paratormônio PTH num pequeno grupo de pacientes com úlceras gástricas (sete homens, 12 mulheres, com média de idade de 67 ± 13 anos). O estudo mostrou que após oito semanas de terapia com o omeprazol o nível de PTH aumentou 28% em relação à linha de base entre esses pacientes, acompanhado pelo aumento de osteocalcina, fosfatase alcalina e fosfatase ácida resistente ao tartarato, que são marcadores de formação óssea. Ou seja, sugere-se que nesse pequeno grupo houve aumento da formação óssea, contrário aos resultados do presente estudo.

No entanto, a excreção urinária de hidroxiprolina e cálcio, nos pacientes do estudo de Mizunashi et al.,<sup>20</sup> diminuiu, o que pode sugerir menor absorção de cálcio. A comparação com o presente estudo é limitada, uma vez que se trata de um estudo experimental, enquanto o estudo de Mizunashi et al. foi feito com seres humanos; o PTH foi medido apenas num único ponto de tempo, o que pode não refletir o efeito dinâmico da PTH durante um período de 24 horas; além de a dose do omeprazol e suplementação de cálcio nesses pacientes ser questionável.

Por outro lado, vários estudos prévios demonstram a associação entre o uso de PPIs e fraturas diversas. Yang et al.<sup>4</sup> afirmam que uso de PPIs pode causar efeitos deletérios no tecido ósseo e aumentar o risco de fraturas osteoporóticas, principalmente após quatro anos de uso contínuo. Vestergaard et al.<sup>21</sup> corroboram o estudo anterior e confirmaram a

relação entre uso de PPIs e fraturas osteoporóticas. Ainda, Gray et al.<sup>22</sup> fizeram uma análise prospectiva que incluiu 161.806 mulheres no intuito de relacionar o uso de PPIs com o risco de fraturas clínicas. Os autores concluíram que existe uma associação entre PPIs e fraturas clínicas de punho, vértebra e antebraço. O presente estudo corrobora os achados anteriores, uma vez que foi demonstrada relação entre o uso de omeprazol e a diminuição da densidade mineral óssea, o que pode ser entendido como um sinal preditor para a ocorrência de fraturas em decorrência do uso em longo prazo de PPIs.

Kaye e Jick<sup>23</sup> fizeram um estudo retrospectivo em que o uso de PPIs e os riscos de fraturas de quadril foram avaliados em pacientes sem fatores de risco importante. Esses autores concluíram que pacientes na faixa etária de 50-79 anos que fazem uso de PPIs e não têm fator de risco não têm aumento de fratura de quadril. Nesse estudo foram usados dados epidemiológicos de uma mesma fonte de dados que Yang et al.<sup>4</sup> usaram em 2006. No entanto, Yang et al.<sup>4</sup> observaram que os riscos de fratura de quadril aumentam com o uso de PPIs, sobretudo quando o uso é igual ou superior a quatro anos. Kaye e Jick entendem que os resultados de Yang et al.<sup>4</sup> se referem apenas àqueles pacientes com algum fator de risco para fraturas de quadril, uma vez que eles não excluíram os pacientes com fatores de risco importante.

Targownik et al.<sup>9</sup> fizeram um estudo retrospectivo transversal seguido de uma fase longitudinal. No estudo transversal, casos de osteoporose de quadril ou vértebras lombares foram comparados com controles de DMO normal. Na análise longitudinal, a alteração na DMO entre usuários ou não de PPIs foi avaliada sucessivamente. Seus resultados indicaram que o consumo crônico de PPI não está associado ao aumento da probabilidade de ocorrência de fraturas. Além disso, concluíram que o aumento da intensidade de exposição não está associado com risco aumentado de apresentar osteoporose. Em outras palavras, eles acreditam que o risco de fratura está relacionado a outras variáveis independentes àquelas relacionadas à osteoporose.

Nosso estudo não pode ser totalmente comparado com o desses autores, pois é experimental. Entretanto, sabe-se que, além das características minerais, avaliadas pelo DXA, o osso tem propriedades viscoelásticas importantes que permitem que esse tecido cumpra suas funções específicas.<sup>24,25</sup> Para analisar essas propriedades, os estudos experimentais são os mais indicados, pois permitem análises ex-vivo. Em nosso conhecimento, este é o primeiro estudo a analisar os efeitos dos PPIs nas propriedades viscoelásticas do tecido ósseo de animais submetidos a diferentes doses de omeprazol por um tempo prolongado.

A fratura osteoporótica é causada pela diminuição do conteúdo mineral ósseo. Quando a massa óssea está diminuída, ou seja, na osteopenia/osteoporose, espera-se que as propriedades mecânicas do osso estejam alteradas e assim ele se rompa com cargas menores.<sup>26</sup> Nesse raciocínio, Peng et al.<sup>27</sup> analisaram diferentes modelos experimentais de perda óssea e observaram alterações da resistência mecânica com diminuição da carga de ruptura suportada pelo osso, principalmente em ratas ovariectomizadas. Pode-se concluir, portanto, que ratas osteopênicas têm, então, propriedades mecânicas alteradas nos ossos.

Apesar das altas dosagens de medicamentos, e do longo período em que os animais ficaram expostos à ingestão de omeprazol, o mecanismo de ação dos PPIs não influenciou em qualquer propriedade mecânica do osso em nosso estudo. Acreditamos que a maior dose estipulada ou o tempo de uso não foram suficientes para alterar as propriedades mecânicas do osso, embora tenham diminuído a mineralização óssea.

Não foi encontrada uma proporção para estipular doses de fármacos PPIs em animais que simulem o uso humano. A dose desse medicamento geralmente administrada em humanos é de 20 mg ao dia e pode chegar a até 90 mg. Entretanto, não se sabe qual seria a dose equivalente a essas em animais. Sabe-se que o omeprazol é ligado a cerca de 95% do plasma<sup>28</sup> em humanos e segundo Regårdh et al.<sup>29</sup> em cães e ratos essa ligação seria menor (90% e 87% respectivamente), o que sugere que um simples cálculo de dose por Kg não refletiria a dose usada em humanos. Além disso, foi visto que a meia-vida média desse medicamento é de uma hora no homem e no cão, enquanto no rato foram registradas meia-vidas na faixa de 5-15 minutos.<sup>29</sup>

Alguns estudos dose-resposta sobre os PPIs em animais foram feitos, entretanto com objetivos diferentes do nosso trabalho. Londonget al.<sup>30</sup> fizeram um estudo dose-resposta nas doses de 30, 60 e 90 mg/Kg e um segundo estudo usou uma dose de 1 a 10 mg/kg.<sup>31</sup> Adhikay et al.<sup>32</sup> usaram uma dose de 3 mg/Kg em ratos com vistas à cura de úlceras gástricas induzidas. Em 2003, Melo et al.<sup>33</sup> submetem ratos Wistar a uma ingestão de 0,2 mg/Kg, no intuito de avaliar o efeito dessa ingestão sobre a hepatectomia parcial. Ainda que muitas dosagens tenham sido encontradas, não há consenso na literatura experimental sobre a dose de PPIs equivalente àquelas em humanos para ser testada em longo prazo.

O presente trabalho baseou-se no estudo de Cui et al.,<sup>1</sup> cujos objetivos eram semelhantes ao nosso, ou seja, estudar os efeitos em longo prazo dos PPIs. Cui et al.<sup>1</sup> trataram animais durante 77 dias, em uma dose de 400 µmol. A maior dose do presente estudo foi estipulada como um pouco menor do que a desses autores, 300 µmol, porém com o tempo de uso de 90 dias, um pouco maior do que no trabalho de Cui et al.,<sup>1</sup> e pôde-se observar que os efeitos foram semelhantes, pois os autores também identificaram diminuição da DMO nos seus animais.

Em síntese, o presente estudo demonstrou que o uso de PPIs em longo prazo não alterou as propriedades mecânicas de fêmur de ratos adultos. No entanto, observou-se a desmineralização óssea do fêmur dos ratos submetidos à administração diária de 300 µmol/Kg/dia de omeprazol, o que pode sugerir uma predisposição para fraturas ósseas. Futuros estudos experimentais, com protocolos semelhantes ao nosso, seriam úteis para confirmar esses resultados.

### Conflitos de interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

### Agradecimentos

Nossos sinceros agradecimentos aos senhores Lúcio Ivan de Melo, José Lopes e Marcos Martins pelo auxílio no cuidado com os animais e à Sra. Nelsi Nara Vieira Marchette pela

contribuição nos medicamentos. À aluna de pós-graduação Bruna Rezende, pelo auxílio nas análises densitométricas.

### REFERÊNCIAS

1. Cui GL, Syversen CM, Zhao D, Chen HL. Long-term omeprazole treatment suppresses body weight gain and bone mineralization in young male rats. *Scand J Gastroenterol.* 2001;36(10):1011-5.
2. Guimarães EV, Marguet C, Camargos PAM. Tratamento da doença do refluxo gastroesofágico. *J Pediatr.* 2006;82(Suppl 5):133-45.
3. Hyun JJ, Chun HJ, Keum B, Seo YS, Kim YS, Jeon YT, et al. Effect of omeprazole on the expression of transcription factors in osteoclasts and osteoblasts. *Int J Mol Med.* 2010;26(6):877-83.
4. Yang YX, Lewis JD, Epstein S, Metz DC. Long-term proton pump inhibitor therapy and risk of hip fracture. *JAMA.* 2006;296(24):2947-53.
5. Yang Y. Chronic proton pump inhibitor therapy and calcium metabolism. *Curr Gastroenterol Rep.* 2012;14(6):473-9.
6. Wagner C. Eficácia da associação de inibidores da bomba de prótons com pasta de hidróxido de cálcio como medicação intracanal em dentes de ratos com lesões periapicais [dissertação]. Porto Alegre: Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Faculdade de Odontologia; 2011.
7. Kakehasi AM. Gastrite autoimune e gastrite associada à infecção pelo helicobacter pylori- Estudo histológico e imuno-histoquímico da mucosa gástrica oxíntica e correlação com a densidade mineral óssea [tese]. Belo Horizonte. Universidade Federal de Minas Gerais: Faculdade de Medicina; 2008.
8. Targownik LE, Lix LM, Metge CJ, Prior HJP, Leung S, Leslie WD. Use of proton pump inhibitors and risk of osteoporosis related. *CMAJ.* 2008;179(4):319-26.
9. Targownik LE, Lix LM, Leung S, Leslie WD. Proton-pump inhibitors use is not associated with osteoporosis or accelerated bone mineral density loss. *Gastroenterology.* 2010;138(3):896-904.
10. Wandall JH. Effects of omeprazole on neutrophil chemotaxis, super oxide production, degranulation, and translocation of cytochrome. *GUT.* 1992;33(5):617-21.
11. Scaringi L, Cornacchione P, Fettucciarì K, Rosati E, Rossi R, Marconti P, Capodicasa E. Activityinhibitor of cytolytic lymphocytes by omeprazole. *Scand J Immunol.* 1996;44(3):204-14.
12. International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals. Council for International Organizations of Medical Sciences (Cioms), Washington, D.C.: National Academy Press;1985.
13. Larsson H, Carlsson E, Jungggren U, Olbe L, Sjöstrand SE, Skanberg I, et al. Inhibition of gastric acid secretion by omeprazole in the dog and rat. *Gastroenterol.* 1983;85(4):900-7.
14. Mello JRB, Mello FB, Etges RN, Hollenbach C, Rodrigues JM, Hirtz L. Toxicidade pré-clínica de fitoterápico contendo gossypiumherbaceum (algodoeiro) em ratos Wistar. *Lat Am J Pharm.* 2008;27(1):46-55.
15. Silva AS, Fernandes ES, Pinto RM, Reis JEP, Guerra MO, Peters VM. Avaliação hematológica e bioquímica em ratos prenhes tratadas com extrato de ginkgobiloba. *Rev Interdiscipl Est Experiment.* 2010;2(3):81-8.
16. Matheus JPC, Milani JGPO, Gomide LB, Volpon JB, Shimano AC. Análise biomecânica dos efeitos da crioterapia no tratamento da lesão muscular aguda. *Rev Bras Med Esporte.* 2008;14(4):372-5.

17. Frateschi MEMJM. Efeitos da imobilização e remobilização em algumas propriedades mecânicas do osso [dissertação]. São Carlos: Universidade de São Paulo, Bioengenharia; 2002.
18. Pugliesi HB, Moro CA, Paccola CAJ. Estudo da resistência mecânica do ligamento cruzado anterior em ratos que praticaram natação. *Rev Bras Ortop.* 2005;40(5):260-9.
19. Szejnfeld VL, Jennings F, Castro CHM, Pinheiro MM, Lopes AC. Conhecimento dos médicos clínicos do Brasil sobre as estratégias de prevenção e tratamento da osteoporose. *Rev Bras Reumatol.* 2007;47(4):251-7.
20. Mizunashi K, Furukawa Y, Katano K, Abe K. Effect of omeprazole, an inhibitor of H<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPase, on bone resorption in humans. *Calcif Tissue Int.* 1993;53(1):21-5.
21. Vestergaard P, Rejnmark L, Mosekilde L. Proton pump inhibitors, histamine H<sub>2</sub> receptor antagonists, and other antacid medications and the risk of fracture. *Calcif Tissue Int.* 2006;79(2):76-83.
22. Gray SL, LaCroix AZ, Larson J, Robbins J, Cauley JA, Manson JA, et al. Proton pump inhibitor use, hip fracture, and change in bone mineral density in postmenopausal women – Results from the women's health initiative. *Arch Intern Med.* 2010;170(9):765-71.
23. Kaye JA, Jick H. Proton pump inhibitor use and risk of hip fractures in patients without major risk factors. *Pharmacotherapy.* 2008;28(8):951-9.
24. Nordin M, Frankel VH. *Biomecânica básica do sistema musculoesquelético.* 3<sup>a</sup> ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2003.
25. Shimano AC, Shimano MM. Ensaio tecnológicos de matérias biológicas. In: VII Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica. Florianópolis: Santa Catarina. Anais do VIII Cebeb; 2000.
26. Kodama AC. Efeitos do ultrassom pulsado de baixa intensidade em um modelo ósseo de ratas ovariectomizadas analisadas por meio do ensaio de flexocompressão [dissertação]. São Carlos: Universidade de São Paulo, Bioengenharia; 2003.
27. Peng Z, Tuukkanen J, Zhang H, Jämsä T, Väänänen HK. The mechanical strength of bone in different rat models of experimental osteoporosis. *Bone.* 1994;15(5):523-32.
28. BRASIL. Ministério da Saúde. Formulário terapêutico nacional 2008: Rename 2006. Brasília: Ministério da Saúde; 2008. Disponível em: [http://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/formulario\\_terapeutico\\_nacional\\_2008.pdf](http://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/formulario_terapeutico_nacional_2008.pdf)
29. Regårdh CG, Gabrielsson M, Hoffman KJ, Löfberg I, Skånberg I. Pharmacokinetics and metabolism of omeprazole in animals and man – An overview. *Scand J Gastroenterol.* 1985;108(Suppl):79-94.
30. Londong W, Londong V, Cederberg C, Steffen H. Dose-response study of omeprazole on meal-stimulated gastric acid secretion and gastrin release. *Gastroenterology.* 1983;85(6):1373-8.
31. Takeuchi K, Konaka A, Nishijima M, Kato S, Yasuhiro T. Effects of pantoprazole, a novel H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase inhibitor, on duodenal ulcerogenic and healing responses in rats: a comparative study with omeprazole and lansoprazole. *J GastroenterolHepatol.* 1999;14(3):251-7.
32. Adhikary B, Yadav SK, Bandyopadhyay SK, Chattopadhyay S. Epigallocatechingallate accelerates healing of indomethacin-induced stomach ulcers in mice. *Pharmacol Rep.* 2011;63(2):527-36.
33. Melo GB, Silva RL, Fakhouri R, Melo VA, Lima SO. Efeito do omeprazol e do pantoprazol sobre a regeneração hepática após hepatectomia parcial em ratos. *Acta Cir Bras.* 2003;18(6):542-4.