

## AÇÃO DAS ESTATINAS NO TECIDO ÓSSEO EFFECTS OF STATINS ON BONE TISSUE

Newton Maciel Oliveira<sup>1</sup>, Stephanie Victoria Camargo Leão Edelmuth<sup>2</sup>, Khatharine Suheyhuky Aoki<sup>2</sup>, Karlla Karollynna de Fátima Gaiotto<sup>2</sup>

### RESUMO

O tecido ósseo tem a capacidade de se reparar sem deixar cicatriz após uma injúria ou remoção cirúrgica. Contudo, para grandes defeitos ósseos, há a necessidade de enxertos para repor a estrutura perdida, nos quais podem ser adicionados fatores de crescimento e de diferenciação celular. Nesse sentido, pesquisas recentes têm mostrado que as estatinas, um grupo de drogas usadas para a diminuição do colesterol, possui efeitos pleiotrópicos que incluem o aumento de formação do tecido ósseo pelos osteoblastos e diminuição da reabsorção pelos osteoclastos. O presente trabalho é uma atualização sobre a ação dessa droga no tecido ósseo. Entretanto, devido à existência de pesquisas que neguem tais efeitos, mais estudos devem ser realizados para elucidar a questão.

Descritores: osso e ossos; inibidores de hidroximetilglutaril-CoA redutases; osteogênese.

### ABSTRACT

Bone tissue has the capacity of repairing itself without leaving a scar after an injury or surgical resections. For large defects, on the other hand, the structural loss requires the use of bone grafts, to which growth and cellular differentiation factors can be added. Recent studies have shown that statins, a class of drugs used to lower cholesterol levels, have pleiotropic effects, which include increase of bone formation by osteoblasts and inhibition of bone resorption by osteoclasts. The current study is an update on the actions of these drugs and its mechanism on bone tissue. However, due to the existence of scientific papers that deny these effects, more research should be conducted as to clarify the matter.

Key-words: bone and bones; hydroxymethylglutaryl-CoA reductase inhibitors; osteogenesis.

### INTRODUÇÃO

Os ossos são um dos poucos componentes do nosso organismo com a capacidade de se reparar sem deixar cicatriz, ou seja, se regenerar após uma injúria ou remoção cirúrgica. Contudo, se a extensão do defeito ósseo for muito grande, o reparo resultará em parte em um tecido conjuntivo fibroso. Dessa maneira, existe um tamanho crítico de defeito para cada animal e também para cada tipo de osso. Assim, o conceito de tamanho crítico é o menor tamanho do defeito que não irá se regenerar espontaneamente.<sup>1</sup>

Nesse contexto, a reconstrução de grandes defeitos ósseos continua sendo um dos desafios da engenharia de tecidos. Na tentativa de reparar defeitos ósseos maiores, novas abordagens propõem a utilização de agentes bioativos colocados em arcabouços de material biodegradável.<sup>2</sup> Entre os agentes bioativos propostos estão as estatinas.

As estatinas são medicamentos utilizados para a redução de taxas elevadas de colesterol, porém, vários estudos propõem que elas possuem ação no tecido ósseo através da estimulação da

proteína morfogenética óssea BMP-2.<sup>3</sup>

As BMPs são moléculas que atuam sobre diferentes tipos celulares, estando envolvidas na diferenciação de células mesenquimais em células do tecido ósseo.<sup>4</sup> Como apresentam efeitos sobre as células do tecido ósseo, as estatinas têm a capacidade de intensificar a reabsorção de materiais sintéticos e aprimorar o crescimento ósseo.<sup>5</sup> Desta forma, acredita-se que se orientadas exclusivamente ao osso, as estatinas podem ser benéficas no tratamento da osteoporose e fraturas.<sup>3</sup> As estatinas têm sido utilizadas em experimentos como estimuladoras da formação óssea, o que propõe seu emprego na área da medicina ortopédica.<sup>5</sup>

### Mecanismo de ação

As estatinas são drogas que promovem a redução da hipercolesterolemia,<sup>6</sup> com ação primordial no LDL colesterol, mas também apresentam ação anti-inflamatória, inibição da proliferação celular, efeitos anticoagulantes, melhoria da disfunção endotelial mediada por óxido nítrico, efeitos antioxidantes, estabilização de placas ateroscleróticas, ações imunossupressoras e também ação no tecido ósseo.<sup>3</sup>

As estatinas são inibidores competitivos da 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A (HMG-CoA) redutase, enzima que catalisa a conversão do HMG-CoA a mevalonato.<sup>3</sup> O mevalonato é um intermediário importante no metabolismo do colesterol, além de originar vários compostos isoprenoides, vitais para as diversas funções celulares após seu metabolismo.<sup>7</sup>

Dessa forma, além de reduzir os níveis de colesterol, as estatinas também inibem a formação da enzima intracelular farnesil difosfato sintetase, que participa da via do mevalonato. Com a inibição desta enzima, há o bloqueio da via que controla a síntese da proteína geranylgeranyl difosfato (GGPP), levando à inativação da família de proteínas GTPases (rac, Rho, Chc 42).<sup>8</sup>

A atividade destas GTPases e sua ligação à membrana requerem prenilação, sendo que tais proteínas prenidadas são fundamentais no tráfego de vesículas, na mediação de mudanças do citoesqueleto iniciadas por fatores de crescimento e integrinas,<sup>9</sup> e na manutenção da integridade citoesquelética dos osteoclastos, contribuindo para sua função e sobrevivência.<sup>8</sup>

Assim, por reduzir a disponibilidade do substrato, as estatinas inibem a prenilação e, conseqüentemente, a ação do osteoclasto - devido à importância das proteínas prenidadas na sua função.<sup>9</sup>

É possível que a prenilação de GTPases por produtos da via do mevalonato regulem negativamente a expressão de BMP-2. Portanto, com a inibição da via do mevalonato, impedindo a prenilação e a função das GTPases, ocorre o

Rev. Fac. Ciênc. Méd. Sorocaba, v. 17, n. 2, p. 54 - 57, 2015

1. Professor do Depto. de Morfologia e Patologia - FCMS/PUC-SP

2. Acadêmica do curso de Medicina - FCMS/PUC-SP  
Recebido em 4/11/2014. Aceito para publicação em 27/4/2015.

Contato: newtonmo@hotmail.com

estímulo da expressão da BMP-2, levando ao aumento da proliferação dos osteoblastos, resultando no aumento da formação óssea.<sup>10</sup>

As estatinas também inibem a transformação de pré-osteoclastos em osteoclastos através das células da medula óssea e pela ação indireta via osteoblastos. Os osteoblastos recrutam e ativam os osteoclastos através da interação do receptor ativador NFκ B ligante (RANKL) na sua superfície, com o receptor RANK nas células hematopoiéticas precursoras de osteoclastos. Essa ativação dos osteoclastos é controlada pelos osteoblastos pela secreção de osteoprotegerina (OPG) - um receptor solúvel que compete com RANKL pelo RANK para inibir o recrutamento dos osteoclastos, mantendo um equilíbrio entre ambos.<sup>8</sup>

Foi demonstrado em um estudo, que a sinvastatina pode antagonizar os osteoclastos pelo aumento da expressão de RNAm de OPG e pela diminuição da expressão do RNAm de RANKL em cultura de células de osso de rato.<sup>11</sup> Portanto, a proporção entre RANKL e OPG (RANKL/OPG) é determinante para regular a atividade osteoclástica e reabsorção óssea.<sup>12</sup>

O cultivo de células MC3T3-E1 (uma linha clonal de células pré-osteoblásticas derivadas da calvaria de ratos recém-nascidos), na presença de estatinas, promoveu aumento da expressão de RNAm para a proteína morfogenética do osso-2 (BMP-2), fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), fosfatase alcalina, colágeno tipo I, sialoproteína do osso e osteocalcina (OCN), enquanto suprimiu a expressão do gene para a colagenase-1 e para a colagenase-3.<sup>13</sup> Além disso, as estatinas também demonstraram potencial para estimular mineralização.<sup>13</sup>

Células tronco mesenquimais derivadas do tecido adiposo (HAD-MSCs), quando cultivadas com sinvastatina, apresentaram expressão de RNAm de genes relacionados aos osteoblastos, como colágeno tipo I alfa 1 (COL1A1), fosfatase alcalina (ALP), osteopontina (SPP1), osteocalcina e fator de crescimento vascular endotelial (VEGFA). Além disso, também houve aumento da secreção de osteoprotegerina (OPG), fator de crescimento endotelial vascular A (VEGFA), osteopontina (OPN) e osteocalcina (OCN).<sup>14</sup>

Na regeneração óssea os fatores de crescimento angiogênicos são predominantemente expressos durante as fases iniciais para o restabelecimento da vascularização, ao passo que os fatores de crescimento osteogênicos são expressos durante a formação e remodelação óssea. Sendo assim, células semelhantes a osteoblastos estimularam a proliferação de células endoteliais pela produção de VEGF, enquanto as células endoteliais estimularam a diferenciação de células osteoprogenitoras pela produção de BMP-2.<sup>15</sup>

A diferenciação e maturação dos osteoblastos são caracterizadas por um aumento da regulação temporária de COL1A1 - marcador para pré-osteoblastos ou células semelhantes a osteoblastos indiferenciadas, e aumento da atividade de fosfatase alcalina (ALP) - marcador precoce da diferenciação osteoblástica, combinado com um aumento da regulação sustentada de osteocalcina - marcador tardio da diferenciação de osteoblastos.<sup>14,16</sup>

A ação das estatinas também decorre da inibição da apoptose dos osteoblastos pela ação do fator de transformação do crescimento beta (TGF-β). O TGF-β apresenta papel fundamental na formação óssea, sendo as proteínas Smad ("mães contra decapentaplégico") pertencentes a essa via de sinalização.<sup>11</sup> Existem evidências de inibição da apoptose osteoblástica regulada por pitavastatina, mevastatina e sinvastatina, devido a maior expressão de Smad 3 ("mães contra decapentaplégico

homólogo 3"), que funciona como transdutora de sinal e moduladora da transcrição.<sup>17</sup> A Smad 3 ativa é fundamental para a manutenção da formação óssea, enquanto que sua supressão acarreta a apoptose osteoblástica.<sup>11</sup>

### Aplicação das estatinas no tecido ósseo

Desde as primeiras demonstrações dos efeitos das estatinas sobre o metabolismo ósseo,<sup>18</sup> muitos estudos vêm sendo conduzidos no intuito de melhor esclarecer e comprovar a capacidade de ação dessas drogas. A aplicação do fármaco em animais bem como o estudo clínico em humanos são exemplos de pesquisas nesta área. As estatinas podem ser administradas tanto por via sistêmica como local, apresentando vantagens e desvantagens em cada um dos casos.

Estudos com ratas ovariectomizadas que receberam doses orais de sinvastatina confirmaram o efeito das drogas em aumentar a resistência e volume ósseos bem como atenuar a perda de densidade mineral óssea. Outros fármacos da mesma classe, como atorvastatina e fluvastatina, apresentaram ações semelhantes em animais submetidos ao mesmo procedimento cirúrgico.<sup>19</sup> Foi demonstrada, ainda, a capacidade das estatinas de prevenir o *turnover* ósseo, pela análise de marcadores teciduais em ratos saudáveis e naqueles com artrite.<sup>20,21</sup>

Em contrapartida, Anbinder *et al.*<sup>22</sup> administraram 25 mg/kg de sinvastatina em ratas ovariectomizadas e não observaram mudanças no tecido ósseo, tendo atribuído parcialmente as variações entre os estudos efetuados às distinções de metodologia.

Apesar dos resultados positivos descritos, tem-se verificado menor eficácia da administração sistêmica devido à alta concentração da droga no tecido hepático, acumulando-se em menor quantidade no osso. Em média, menos de 5% da dose oral utilizada atinge a circulação que irriga tecidos periféricos.<sup>23</sup> Além disso, o uso sistêmico em altas doses está associado a maior risco de falência hepática, renal e rabdomiólise.<sup>24</sup> Considerando-se que a diminuição das doses orais de sinvastatina foi associada à redução da formação óssea e aumento de sua reabsorção por Maritz *et al.*,<sup>9</sup> é possível perceber a dificuldade em atingir-se os efeitos esperados nesta via de administração.

Frente a tais empecilhos, a aplicação local das estatinas para reparo ósseo em fraturas, ossos longos, defeitos craniofaciais e região periodontal tem se demonstrado alternativa promissora. Para tanto, é necessária a escolha de meios carreadores do fármaco adequado, cujas possibilidades são variadas, tais como, cálcio, colágeno, polímeros biorreabsorvíveis, dentre outros.

Um estudo de aplicação local de sulfato de cálcio carregado com sinvastatina no arcabouço dentário de ratos revelou aumento na espessura do osso alveolar.<sup>25</sup> Stein *et al.*<sup>26</sup> examinaram o efeito da aplicação local de estatinas com metilcelulose sobre o periosteio mandibular de ratos, sendo que os grupos tratados mostraram maior área óssea que o grupo controle bem como resposta inflamatória do tecido envolvido.

Sabe-se, ainda, que o nível de inflamação desencadeada pela inserção local das estatinas acopladas a sistemas de liberação da droga depende, em grande parte, das concentrações utilizadas. Embora a inflamação e seus mediadores sejam necessários para a regeneração tecidual e recuperação pós-cirúrgica, em grandes intensidades podem contribuir para a necrose e consequente perda de função do tecido.<sup>27</sup>

A sinvastatina, quando aplicada em doses mais discretas na calota craniana de ratos, promoveu menor processo inflamatório, sem prejuízo ao efeito anabólico do fármaco sobre o osso.<sup>7</sup>

Além de estudos *in vivo* em animais, pesquisas relacionadas às ações das estatinas sobre o tecido ósseo foram também conduzidas em humanos ao longo dos últimos anos, sendo que a maioria desses estudos basearam-se na avaliação do risco de fraturas em mulheres que faziam uso de estatinas para controle do perfil lipídico, com a dose farmacológica recomendada no tratamento de hipercolesterolemia.<sup>28,29</sup>

Verificou-se, em uma pesquisa conduzida em um centro acadêmico norte-americano, que dentre 339 mulheres avaliadas, as 162 que estavam sendo medicadas com estatinas, ou fizeram uso contínuo da mesma previamente, apresentaram densidade óssea no quadril significativamente maior.<sup>28</sup>

Montagnani *et al.*<sup>29</sup> compararam 30 mulheres no período pós-menopausa tratadas com sinvastatina 40 mg/dia com 30 pacientes de mesmo perfil sem uso da droga e evidenciaram maior densidade óssea no fêmur e coluna vertebral lombar após 12 meses. O efeito combinado de estatinas e outras drogas potencialmente osteoindutoras também tem sido objeto de análise.

Um ensaio biológico com 120 ratos *Wistar* testou a capacidade das estatinas (atorvastatina), flavonoides (ipriflavona) e bisfosfonatos (alendronato de sódio) em promover regeneração óssea.

Considerando outras doenças crônicas de grande prevalência que são eficientemente tratadas com associação de fármacos de diferentes classes, como hipertensão arterial, *Diabetes mellitus* e artrite reumatoide, é plausível a tentativa de tratamento da osteoporose por método similar.

O trabalho concluiu que todas as combinações entre as drogas testadas apresentaram efeitos positivos nos animais osteoporóticos, não só na preservação, mas também na restauração do tecido ósseo.<sup>30</sup>

## CONCLUSÃO

Os inúmeros estudos realizados com as estatinas e sua influência na formação óssea sugerem que sua utilização seja algo promissor no campo da engenharia tecidual com a possibilidade de auxiliar na reparação de grandes defeitos ósseos. Entretanto, devido à existência de pesquisas que neguem suas atuações no tecido ósseo, mais estudos devem ser realizados para elucidar a questão.

## REFERÊNCIAS

- Hollinger JO, Kleinschmidt JC. The critical size defect as an experimental model to test bone repair materials. *J Craniofac Surg.* 1990;1:60-8.
- Pişkin E, Isoğlu İa, Bölgen N, Vargel I, Griffiths S, Cavuşoğlu T, et al. In vivo performance of simvastatin-loaded electrospun spiral-wound polycaprolactone scaffolds in reconstruction of cranial bone defects in the rat model. *J Biomed Mater Res A.* 2009;90:1137-51.
- Anbinder AI, Quirino MRS, Rocha RF. As estatinas e o tecido ósseo: revisão da literatura. *Rev Odontol UNESP.* 2006;35:239-46.
- Santos AA, Miranda CDO, Alves MTS, Faloppa F. O papel da proteína morfogenética óssea na reparação do tecido ósseo. *Acta Ortop Bras.* 2005;13:194-5.
- Ma B, Clarke SA, Brooks RA, Rushton N. The effect of simvastatin on bone formation and ceramic resorption in a peri-implant defect model. *Acta Biomater.* 2008;4:149-55.
- Tai IC, Fu YC, Wang CK, Chang JK, Ho MI. Local delivery of controlled-release simvastatin/PLGA/HAp microspheres enhances bone repair. *Int J Nanomed.* 2013;8:3895-905.
- Calixto JC, Lima CE, Frederico L, Lima RP, Anbinder AL. The influence of local administration of simvastatin in calvarial bone healing in rats. *J Craniomaxillofac Surg.* 2011;39:215-20.
- Nobre D, Fontes KBFC, Carvalho Neto LGMC, Neves, FG, Geller M, Cunha KSG. Patogênese da osteonecrose dos ossos maxilares induzida por bifosfonatos: o que se sabe atualmente? *RBM.* 2012;69:318-22.
- Maritz FJ, Conradie MM, Hulley PA, Gopal R, Hough S. Effects of statins on bone mineral density and bone histomorphometry in rodents. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001;21:1636-41.
- Anbinder AI, Junqueira JC, Mancini MN, Balducci I, Rocha RF, Carvalho YR. Influence of simvastatin on bone regeneration of tibial defects and blood cholesterol level in rats. *Braz Dent J.* 2006;17:267-73.
- Zhang Y, Bradley AD, Wang D, Reinhardt RA. Statins, bone metabolism and treatment of bone catabolic diseases. *Pharmacol Res.* 2014;88:53-61.
- Hungria VTM. Doença óssea em mieloma múltiplo. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2007;29:60-6.
- Houshamand B, Hassanizade R, Eslami B, Amouei S, Dashti G, Morad G, et al. Simvastatin and lovastatin induce ectopic bone formation in rat subcutaneous tissue. *J Periodontol Implant Dent.* 2010;2:12-6.
- Pullisaar H, Reseland JE, Haugen HJ, Brinchmann JE, Østrup E. Simvastatin coating of TiO2 scaffold induces osteogenic differentiation of human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells. [Biochem Biophys Res Commun.](https://doi.org/10.1007/s12013-014-944-4) 2014;447:139-44.
- Kempen DH, Lu L, Heijink A, Hefferan TE, Creemers LB, Maran A et al. Effect of local sequential VEGF and BMP-2 delivery on ectopic and orthotopic bone regeneration. *Biomaterials.* 2009;30:2816-25.
- Baek KH, Lee WY, Oh KW, Tae HJ, Lee JM, Lee EJ et al. The effect of simvastatin on the proliferation and differentiation of human bone marrow stromal cells. *J Korean Med Sci.* 2005;20:438-44.
- Pacheco-Pantoja EL, Alvarez-Nemegyei J. Estatinas y osteoporosis. *Reumatol Clin.* 2014;10:201-3.
- Mundy G, Garret R, Harris S, Chan J, Chen D, Rossini G, et al. Stimulation of bone formation in vitro and in rodents by statins. *Science.* 1999;286:1946-9.
- Uyar Y, Baytur Y, Inceboz U, Demir BC, Gumuser G, Ozbilgin K. Comparative effects of risedronate, atorvastatin, estrogen and SERMs on bone mass and strength in ovariectomized rats. *Maturitas.* 2009;63:261-7.
- Funk JI, Chen J, Downey KJ, Clark RA. Bone protective effect of simvastatin in experimental arthritis. *J Rheumatol.* 2008;35:1083-91.
- Gradosova I, Zivna H, Palicka V, Hubena S, Svejkovska K, Zivny P. Protective effect of atorvastatin on bone tissue in orchidectomized male albino Wistar rats. *Eur J Pharmacol.* 2012;679:144-50.
- Anbinder AL, Prado FA, Prado MA, Balducci I, Rocha RF. The influence of ovariectomy, simvastatin and sodium alendronate on alveolar bone in rats. *Braz Oral Res.* 2007;21:247-52.
- Montazerolghaem M, Engqvist H, Karlsson Ott M. Sustained release of simvastatin from pre-mixed injectable calcium phosphate cement. *J Biomed Mater Res A.* 2014;102:340-7.
- Guyton JR. Benefit versus risk in statin treatment. *Am J Cardiol.* 2006;97:S95-7.
- Nyan M, Sato D, Oda M, Machida T, Kobayashi H, Nakamura T, et al. Bone formation with the combination of simvastatin and calcium sulfate in critical-sized rat calvarial defect. *J Pharmacol Sci.* 2007;104:384-6.
- Stein D, Lee Y, Schmid MJ, Killpack B, Genrich MA, Narayana N, et al. Local simvastatin effects on mandibular growth and inflammation. *J Periodontol.* 2005;76:1861-70.
- Shapiro H, Lutaty A, Ariel A. Macrophages, meta-inflammation, and immuno-metabolism. *ScientificWorldJ.* 2011;11:2509-29.
- Solomon DH, Finkelstein JS, Wang PS, Avorn J. Statin lipid-lowering drugs and bone mineral density. *Pharmacoepidemiol*

29. Drug Saf. 2005;14:219-26.  
Montagnani A, Gonnelli S, Cepollaro C, Pacini S, Campagna MS, Franci MB, et al. Effect of simvastatin treatment on bone mineral density and bone turnover in hypercholesteromic postmenopausal women: a 1-year longitudinal study. Bone. 2003;32:427-33.
30. Pinto AS, Oliveira TT, Del Carlo RJ, Nagem TJ, Fonseca CC, Moraes GHK et al. A. Efeitos de tratamento combinado de alendronato de sódio, atorvastatina cálcica e ipriflavona na osteoporose induzida com dexametasona em ratas. Rev Bras Ciênc Farm. 2006;42:99-107.